

Февруари 2022 г.

# Ръководство за потребителя на Rotor-Gene<sup>®</sup> Q MDx CE



IVD

CE

REF

9002022, 9002032, 9002042



QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ГЕРМАНИЯ

R1

# Съдържание

1	Въведение .....	8
1.1	За настоящото ръководство за потребителя .....	8
1.2	Обща информация .....	9
1.2.1	Техническа помощ .....	9
1.2.2	Декларация за политиката .....	9
1.2.3	Управление на версиите .....	10
1.3	Предвидена употреба на Rotor-Gene Q MDx.....	10
1.3.1	Изисквания за Rotor-Gene Q MDx.....	10
1.4	Изисквани материали.....	11
1.5	Необходими, но непредоставени материали .....	11
2	Информация за безопасността .....	12
2.1	Правилна употреба .....	13
2.2	Електрическа безопасност.....	15
2.3	Биологична безопасност .....	16
2.4	Химична безопасност .....	18
2.5	Депониране на отпадъци .....	18
2.6	Механични опасности.....	19
2.7	Безопасност при поддръжка .....	20
2.8	Символи на Rotor-Gene Q MDx .....	22
3	Общо описание .....	23
3.1	Принцип на Rotor-Gene Q MDx.....	23
3.1.1	Топлинни характеристики .....	23
3.1.2	Оптична система.....	24
3.1.3	Налични канали .....	25
3.2	Външни характеристики на Rotor-Gene Q MDx .....	26
3.2.1	Въздушни отвори на капака .....	26
3.2.2	Дръжка на капака .....	26
3.2.3	Камера на ротора .....	26
3.2.4	Светлинни индикатори за състоянието на апарата .....	26

3.3	Вътрешни характеристики на Rotor-Gene Q MDx.....	27
3.3.1	Роторна глава .....	27
3.3.2	Оптична леща .....	27
	Оптичната леща, където светлината на диода на възбуждане е фокусирана върху епруветките. ....	27
4	Процедури за инсталиране .....	28
4.1	Доставка и монтаж на системата .....	28
4.1.1	Разопаковане на Rotor-Gene Q MDx .....	28
4.1.2	Хардуерна инсталация .....	29
4.1.3	Инсталиране на софтуера .....	30
4.1.4	Версия на софтуера .....	33
4.1.5	Допълнителен софтуер на компютри, свързани към апарати Rotor-Gene Q MDx.....	33
4.2	Изисквания към мястото .....	41
4.3	Връзка с променливотоково захранване .....	42
4.3.1	Изисквания към захранването .....	42
4.3.2	Изисквания за заземяване .....	42
4.3.3	Монтаж на захранващ кабел за променлив ток.....	42
4.4	Конфигурация на настройките за сигурност на Windows .....	43
4.5	Изисквания към работната станция .....	45
4.6	Разопаковане и инсталиране на Rotor-Gene Q MDx.....	45
4.6.1	Надстройка на софтуера.....	46
4.7	Акcesoари.....	47
4.8	Повторно опаковане и транспортиране на Rotor-Gene Q MDx .....	47
4.9	Първи стъпки .....	47
4.9.1	Стартиране на Rotor-Gene Q MDx и работната станция .....	47
5	Операционни процедури .....	48
5.1	Използване на софтуера на Rotor-Gene Q MDx.....	48
5.1.1	Съветник за бързо стартиране .....	48
5.1.2	Съветник за Advanced (Разширени).....	52
5.2	Използване на хардуера на Rotor-Gene Q MDx .....	70

5.2.1	Типове ротори .....	70
5.2.2	Настройка на реакцията .....	74
5.2.3	Настройка на ротационния диск .....	77
6	Потребителски интерфейс за анализ .....	80
6.1	Работно пространство .....	80
6.2	Лента с инструменти .....	80
6.3	Преглед на каналите с необработени данни .....	80
6.4	Превключване на проби .....	81
6.5	Меню „Файл“ .....	83
6.5.1	Нов .....	83
6.5.2	Отваряне и запазване .....	84
6.5.3	Отчети .....	85
6.5.4	Настройки .....	86
6.6	Меню „Анализ“ .....	87
6.6.1	Анализ .....	87
6.6.2	Количествено определяне .....	88
6.6.3	Две стандартни криви .....	100
6.6.4	Относително количествено определяне по метода делта-делта Ст ...	105
6.6.5	Анализ на кривата на топене .....	107
6.6.6	Сравнително количествено определяне .....	111
6.6.7	Апелна дискриминация .....	113
6.6.8	Анализ на диаграмата на разсейване .....	114
6.6.9	Анализ на крайната точка .....	116
6.6.10	Анализ на концентрацията .....	123
6.6.11	Анализ на топене с висока разделителна способност .....	126
6.7	Меню „Цикъл“ .....	127
6.7.1	Стартиране на цикъл .....	127
6.7.2	Поставяне на цикъл на пауза .....	128
6.7.3	Спиране на цикъл .....	128
6.8	Меню „Преглед“ .....	128
6.8.1	Настройки за цикъла .....	128

6.8.2	Температурна графика .....	132
6.8.3	Напредък на профила .....	133
6.8.4	Редактиране на проби .....	134
6.8.5	Опции на дисплея .....	141
6.9	Защита на достъпа до софтуера Rotor-Gene Q .....	141
6.9.1	Конфигурация за Windows 7 .....	142
6.9.2	Конфигурация за Windows 10 .....	148
6.9.3	Работа на няколко потребителя на един и същ компютър .....	150
6.9.4	Одитни пътеки .....	151
6.9.5	Сигнатури на циклите .....	153
6.9.6	Заклучване на проби .....	154
6.9.7	Заклучени шаблони .....	156
6.10	Меню Gain (Усилване) .....	156
6.11	Меню Window .....	157
6.12	Функция „Помощ“ .....	157
6.12.1	Изпращане на имейл за поддръжка .....	158
7	Допълнителни функции .....	162
7.1	Шаблони за анализ .....	162
7.2	Отваряне на втори цикъл .....	162
7.3	Опции за мащабиране .....	162
7.4	Експортиране на графики .....	163
7.5	Икона на винтов/гаечен ключ .....	166
7.6	Опции за избиране на област .....	167
8	Поддръжка .....	168
8.1	Почистване на повърхността на Rotor-Gene Q MDx .....	168
8.2	Обеззаразяване на повърхността на Rotor-Gene Q MDx .....	169
8.3	Ремонт на Rotor-Gene Q .....	169
9	Оптична проверка на температурата .....	170
9.1	Принцип на OTV .....	170
9.2	Компоненти на набора Rotor-Disc OTV Kit .....	171
9.3	Стартиране на OTV .....	171

10	Анализ на топене с висока разделителна способност .....	174
10.1	Инструментариум .....	176
10.2	Химия .....	176
10.3	Пример за генотипиране на SNP .....	176
10.4	Пример за анализ на метилиране.....	179
10.5	Насоки за успешен анализ на HRM .....	180
10.6	Подготовка на пробите .....	182
10.7	Настройка на софтуера .....	182
10.8	Анализ на данните от real-time PCR .....	188
10.9	Анализ на данни от HRM .....	189
11	Отстраняване на проблеми .....	193
11.1	Log архиви .....	194
11.2	Хардуерни и софтуерни грешки.....	194
11.2.1	Отстраняване на проблеми при HRM .....	194
11.3	Съобщения за грешки и предупреждения.....	195
11.3.1	Общи грешки в апарата .....	195
11.3.2	Съобщения от софтуера на Rotor-Gene Q .....	198
12	Терминологичен речник.....	202
13	Технически спецификации .....	203
13.1	Условия на околната среда – условия на работа.....	203
13.2	Условия на транспортиране .....	203
13.3	Условия на съхранение .....	203
13.4	Механични данни и хардуерни характеристики.....	203
13.5	Спецификации (хардуер и софтуер).....	204
13.5.1	Топлинни спецификации.....	204
13.5.2	Оптични спецификации.....	204
14	Приложение А – Правни .....	205
14.1	Декларация на FCC.....	205
14.2	Съответствие с IEC EN 61326 .....	206
14.3	Декларация за съответствие.....	207
14.4	Отпадъци от електрическо и електронно оборудване (ОЕЕО).....	208

---

14.5	Клауза за отговорност.....	209
14.6	Споразумение за софтуерно лицензиране .....	210
15	Приложение Б – Математически методи.....	213
15.1	Количествено определяне.....	213
15.1.1	Доверителни интервали за изчислени концентрации.....	213
15.1.2	Доверителни интервали за стойностите на СТ.....	214
16	Информация за поръчка.....	215
16.1	Продукти, аксесоари и консумативи за Rotor-Gene Q MDx.....	215
17	Хронология на редакциите на документа.....	218

---

# 1 Въведение

Благодарим Ви, че избрахте Rotor-Gene Q MDx. Уверени сме, че той ще стане неразделна част от лабораторията Ви.

Преди да използвате Rotor-Gene Q MDx, е задължително да прочетете внимателно настоящото ръководство за потребителя и да обърнете особено внимание на информацията за безопасността. За безопасна работа и поддържане на изделието в безопасно състояние е необходимо да се спазват инструкциите и информацията за безопасността в ръководството за потребителя.

Имайте предвид, че Rotor-Gene Q MDx се предлага в множество конфигурации. За подробности, включително информация за поръчка, моля, вижте раздел 16.

## 1.1 За настоящото ръководство за потребителя

Настоящото ръководство за потребителя предоставя информация за Rotor-Gene Q MDx в следните раздели:

- Въведение
- Информация за безопасността
- Общо описание
- Процедури за инсталиране
- Операционни процедури
- Поддръжка
- Отстраняване на проблеми
- Технически спецификации
- Приложения

Приложенията съдържат следната информация:

- Приложение А – Правни
- Приложение Б – Математически методи



## 1.2 Обща информация

### 1.2.1 Техническа помощ

QIAGEN® се гордее с качеството и достъпността на своята техническа поддръжка. В нашите отдели „Техническо обслужване“ работят опитни учени със задълбочени практически и теоретични познания по молекулярна биология и използването на продуктите на QIAGEN. Ако имате някакви въпроси или срещате затруднения относно Rotor-Gene Q MDx или продуктите на QIAGEN като цяло, не се колебайте да се свържете с нас.

Клиентите на QIAGEN са главният източник на информация за по-разширени или специализирани начини за употреба на нашите продукти. Тази информация помага както на други специалисти, така и на изследователите в QIAGEN. Затова Ви призоваваме да се свързвате с нас, ако имате предложения за работата на продуктите, нови приложения или техники.

За техническо съдействие можете да се обръщате към „Техническо обслужване“ на QIAGEN.

За актуална информация относно Rotor-Gene Q MDx, посетете <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>.

Уебсайт: [support.qiagen.com](https://support.qiagen.com)

Преди да се обърнете към „Техническо обслужване“ на QIAGEN за грешки, пригответе следната информация:

- Сериен номер, тип и версия на Rotor-Gene Q MDx
- Код за грешката (ако има)
- Моментът от време, в който е възникнала грешката за пръв път
- Колко често възниква грешката (т.е. периодична или постоянна грешка)
- Копие от регистрационните файлове

### 1.2.2 Декларация за политиката

QIAGEN следва политика за подобряване на продуктите, когато излязат нови технологии и компоненти. QIAGEN си запазва правото да променя спецификациите във всеки един момент. За да изготвяме полезна и точна документация, ще се радваме на Вашите отзиви за това ръководство за потребителя. Свържете се с „Техническо обслужване“ на QIAGEN.

### 1.2.3 Управление на версиите

Настоящият документ е *Ръководството за потребителя на Rotor-Gene Q MDx*, редакция R1, за апарати Rotor-Gene Q MDx, използващи софтуера Rotor-Gene Q, версия 2.3.x (където  $x \geq 0$ ).

## 1.3 Предвидена употреба на Rotor-Gene Q MDx

Апаратът Rotor-Gene Q MDx е проектиран да извършва термично циклизиране в реално време, откриване и/или количествено определяне с помощта на полимеразна верижна реакция (PCR) в клинични приложения.

Rotor-Gene Q MDx е предназначен за употреба само в комбинация с набори QIAGEN, предвидени за употреба с апарати Rotor-Gene Q, за приложенията, описани в съответните наръчници на наборите QIAGEN.

Ако апаратът Rotor-Gene Q MDx се използва с набори, различни от тези на QIAGEN, потребителят носи отговорност да валидира ефективността на тази комбинация от продукти за всяко конкретно приложение.

Апаратът Rotor-Gene Q MDx е предназначен за инвитро диагностика.

Апаратът Rotor-Gene Q MDx е предвиден за употреба от професионални потребители, като техници и лекари, обучени в техниките на молекулярната биология и работата с апарата Rotor-Gene Q MDx.

### 1.3.1 Изисквания за Rotor-Gene Q MDx

Таблицата по-долу обхваща общото ниво на компетентност и опит, необходимо за транспортиране, инсталиране, използване, поддръжка и сервизно обслужване на Rotor-Gene Q MDx.

Операция	Персонал	Обучение и опит
Доставяне	Няма специални изисквания	Няма специални изисквания
Инсталиране	Лабораторни техници или еквивалентен персонал	Персонал с подходящо обучение и опит, запознат с използването на компютри и автоматизацията като цяло
Рутинна употреба (изпълнение на протоколи)	Лабораторни техници или еквивалентен персонал	Професионални потребители като техници или лекари, обучени в техниките на молекулярната биология
Рутинна поддръжка	Лабораторни техници или еквивалентен персонал	Професионални потребители като техници или лекари, обучени в техниките на молекулярната биология
Сервизно обслужване и годишна поддръжка	Само специалисти на QIAGEN по обслужване на място	Редовно обучавани, сертифицирани и упълномощавани от QIAGEN

## 1.4 Изисквани материали

**Забележка:** Използвайте само аксесоари, доставени от QIAGEN.

- Rotor-Gene Q MDx 5Plex (каталожен № 9002020)
- Rotor-Gene Q MDx 5Plex HRM (каталожен № 9002030)
- Rotor-Gene Q MDx 6Plex (каталожен № 9002040)
- Laptop (Преносим компютър) (каталожен № 9026760)
- 72-Well Rotor (каталожен № 9018903)
- Locking Ring 72-Well Rotor (каталожен № 9018904)
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (каталожен № 9018901)
- Rotor Holder (каталожен № 9018908)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250) (каталожен № 981103)
- Rotor-Gene Q SW (каталожен № 9023241)

## 1.5 Необходими, но непредоставени материали


- Предпазни очила
- Ръкавици
- Лабораторна престилка


За да използвате Rotor-Gene Q MDx, е необходим набор за PCR, който трябва да бъде закупен отделно. Отворете [QIAGEN.com](http://QIAGEN.com), за да откриете гамата от налични набори.

## 2 Информация за безопасността

Преди да използвате Rotor-Gene Q MDx, е задължително да прочетете внимателно настоящото ръководство за потребителя и да обърнете особено внимание на информацията за безопасността. За безопасна работа и поддържане на изделието в безопасно състояние е необходимо да се спазват инструкциите и информацията за безопасността в ръководството за потребителя.

Следните видове информация за безопасност е предоставена на различни места в *Ръководството за потребителя на Rotor-Gene Q MDx*.

<b>ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ</b> 	Терминът ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ информира за ситуации, които могат да доведат до <b>нараняване</b> на вас или други хора.  Информация за тези обстоятелства се представя в поле като това.
--	--

<b>ВНИМАНИЕ</b> 	Терминът ВНИМАНИЕ се използва, за да Ви информира за ситуации, които биха могли да доведат до <b>повреда на апарата</b> или друго оборудване.  Информация за тези обстоятелства се представя в поле като това.
--	--


Указанията, предоставени в настоящото ръководство, са предназначени да допълват, а не да заменят обичайните изисквания за безопасност, действащи в страната на потребителя.


Имайте предвид, че може да е необходимо да направите справка с местните разпоредби относно докладване на сериозни инциденти, възникнали във връзка с изделието, на производителя и/или на оторизиран негов представител, и на регулаторния орган в страната по местожителство на потребителя и/или пациента.


## 2.1 Правилна употреба

<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Риск от наранявания и материални щети</b></p> <p>Неправилното използване на Rotor-Gene Q MDx може да причини телесни наранявания или повреда на апарата.</p> <p>Rotor-Gene Q MDx трябва да се експлоатира само от квалифициран персонал, преминал подходящо обучение.</p> <p>Сервизното обслужване на апарата Rotor-Gene Q MDx трябва да се извършва само от специалист на QIAGEN по обслужване на място.</p>
--	---


Извършвайте поддръжката, както е описано в раздел 8. QIAGEN таксува потребителите за ремонти, които се налагат поради неправилна поддръжка.


<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Риск от наранявания и материални щети</b></p> <p>Rotor-Gene Q MDx е твърде тежък, за да бъде повдиган от един човек. За да избегнете нараняване или повреда на апарата, не повдигайте апарата самостоятелно.</p> <p>Свържете се с отдела за техническо обслужване на QIAGEN за преместване на апарата.</p>
--	--


<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Риск от наранявания и материални щети</b></p> <p>Не се опитвайте да премествате Rotor-Gene Q MDx по време на работа.</p>
--	--


<p><b>ВНИМАНИЕ</b></p> 	<p><b>Повреда на апарата</b></p> <p>Не допускайте разливане на вода или химикали върху Rotor-Gene Q MDx. Повредата, причинена от разливане на вода или химикали, ще анулира гаранцията Ви.</p>
--	--


**Забележка:** При спешен случай изключете Rotor-Gene Q MDx от превключвателя за захранването, разположен в задната част на апарата, и извадете захранващия кабел от контакта.


<b>ВНИМАНИЕ</b> 	<b>Риск от наранявания и материални щети</b> Не се опитвайте да отваряте капака по време на експеримент или докато Rotor-Gene Q MDx се върти. В противен случай, ако преодолеете заключването на капака и бръкнете вътре, рискувате контакт с части, които са горещи, под електрическо напрежение или се движат с висока скорост, което може да доведе до нараняване и повреждане на апарата.
--	--

<b>ВНИМАНИЕ</b> 	<b>Риск от наранявания и материални щети</b> Ако е необходимо бързо да спрете експеримента, изключете захранването на апарата, след което отворете капака. Оставете камерата да изстине, преди да бръкнете вътре. В противен случай рискувате нараняване в случай на докосване на горещите части.
--	--

<b>ВНИМАНИЕ</b> 	<b>Риск от наранявания и материални щети</b> Ако оборудването се използва по начин, който не е указан от производителя, осигурената от оборудването защита може да бъде нарушена.
--	--

<b>ВНИМАНИЕ</b> 	<b>Риск от наранявания и материални щети</b> Свободно стояща хартия под Rotor-Gene Q MDx пречи на охлаждането на апарата. Препоръчва се зоната под апарата да е свободна.
--	--


<b>ВНИМАНИЕ</b> 	<b>Повреда на апарата</b> Винаги използвайте фиксиращ пръстен на ротора. Той спира капачките да падат от епруветките по време на експеримент. Ако капачките падат по време на експеримент, могат да повредят камерата.
--	---

<p><b>ВНИМАНИЕ</b></p> 	<p><b>Риск от материални щети</b></p> <p>Проверявайте визуално преди всеки цикъл и се уверете, че роторът не е повреден или деформиран.</p>
--	---

Rotor-Gene Q MDx може да се нулира в случай на тежък удар от статично електричество при докосване на Rotor-Gene Q MDx по време на експеримент. Софтуерът обаче ще рестартира Rotor-Gene Q MDx и ще продължи експеримента.

## 2.2 Електрическа безопасност

Преди обслужване изключете захранващия кабел от контакта.

<p><b>ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Опасност от токов удар</b></p> <p>Прекъсването на защитния (заземяващ) проводник във или извън апарата или изваждането на клемата му може да направи апарата опасен.</p> <p>Забранява се умишленото прекъсване.</p> <p><b>Напреженията в апарата са смъртоносни</b></p> <p>Когато апаратът е свързан към мрежовото захранване, клемите може да са под напрежение и отварянето на капацити или отстраняването на части е вероятно да открие части, които са под напрежение.</p>
---	--


За да осигурите задоволителна и безопасна работа на Rotor-Gene Q MDx, изпълнете следните указания:

- Захранващият кабел трябва да бъде свързан към електрически контакт, който има защитен (заземяващ) проводник.
- Не приспособявайте или заменяйте вътрешни части на апарата.
- Не използвайте апарата, ако са отстранени капацити или части.
- Ако в апарата се е разляла течност, изключете го, прекъснете захранването му и се свържете с отдела за техническо обслужване на QIAGEN.

Ако електрическата безопасност на апарата бъде нарушена, не допускайте друг персонал да работи с него и се свържете с отдела за техническо обслужване на QIAGEN.

Електрическата безопасност на апарата може да е нарушена, когато:

- Апаратът и захранващият кабел изглеждат повредени.
- Апаратът е съхраняван продължително при неблагоприятни условия.
- Апаратът е подложен на сериозни транспортни натоварвания.

<b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b> 	<b>Опасност от токов удар</b> Апаратът има етикет за електрическо съответствие, който показва напрежението и честотата на захранването, както и номиналните стойности на предпазителите. Оборудването трябва да работи само при тези условия.
--	--

## 2.3 Биологична безопасност

Пробите и реактивите, съдържащи материали от биологични източници, трябва да се третират като потенциално инфекциозни. Използвайте безопасни лабораторни процедури, както е посочено в публикации като „Биологична безопасност в микробиологичните и биомедицинските лаборатории“ (*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*), NHS (<https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>).

### Проби

Пробите може да съдържат инфекциозни вещества. Необходимо е да бъдете наясно с опасността за здравето, създавана от тези агенти, и да използвате, съхранявате и депонирате такива проби в съответствие с приложимите изисквания за безопасност.



**ПРЕДУПРЕЖ-  
ДЕНИЕ**



**Проби, съдържащи инфекциозни вещества**

Някои проби, използвани с този апарат, може да съдържат инфекциозни вещества. Работете с тези проби възможно най-внимателно и в съответствие с необходимите разпоредби за безопасност.

Винаги носете предпазни очила, 2 чифта ръкавици и лабораторна престилка.

Отговорното лице (напр. ръководителят на лабораторията) трябва да вземе необходимите предпазни мерки, за да гарантира, че заобикалящото работно място е безопасно и че операторите на апаратите са подходящо обучени и не са изложени на опасни нива на инфекциозни вещества, както е определено в приложимите информационни листове за безопасност (Safety Data Sheets, SDS) или документите OSHA,\* ACGIH† или COSHH‡.


Отвеждането на изпарения и изхвърлянето на отпадъци трябва да съответства на всички национални, щатски и местни разпоредби и закони относно здравето и безопасността.

\* OSHA: Администрация по професионална безопасност и здраве (Съединени американски щати).

† ACGIH: Американска конференция на правителствените индустриални хигиенисти (Съединени американски щати).

‡ COSHH: Контрол на опасни за здравето вещества (Великобритания).

## 2.4 Химична безопасност

<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Опасни химикали</b></p> <p>Някои химикали, използвани с този апарат, може да са опасни или да станат опасни след провеждане на цикъла по протокола. Винаги носете предпазни очила, ръкавици и лабораторна престилка. Отговорното лице (напр. ръководителят на лабораторията) трябва да вземе необходимите предпазни мерки, за да гарантира, че заобикалящото работно място е безопасно и че операторите на апаратите не са изложени на опасни нива на токсични вещества (химични или биологични), както е определено в приложимите информационни листове за безопасност (Safety Data Sheets, SDS) или документите OSHA*, ACGIH† или COSHH‡.</p> <p>Отвеждането на изпарения и изхвърлянето на отпадъци трябва да съответства на всички национални, щатски и местни разпоредби и закони относно здравето и безопасността.</p>
--	--

\* OSHA: Администрация по професионална безопасност и здраве (Съединени американски щати).

† ACGIH: Американска конференция на правителствените индустриални хигиенисти (Съединени американски щати).

‡ COSHH: Контрол на опасни за здравето вещества (Великобритания).

### Токсични изпарения

Ако работите с летливи разтворители или токсични вещества, трябва да осигурите ефикасна лабораторна вентилационна система за извеждане на изпаренията, които може да се получат.


## 2.5 Депониране на отпадъци


Използваните лабораторни съдове могат да съдържат опасни химикали. Тези отпадъци трябва да се събират и изхвърлят по подходящ начин в съответствие с местните разпоредби за безопасност.


За повече информация как да изхвърлите Rotor-Gene Q MDx вижте „Отпадъци от електрическо и електронно оборудване (ОЕЕО)“, стр. 208.


## 2.6 Механични опасности


Капакът на Rotor-Gene Q MDx трябва да остане затворен по време на работа на апарата.


<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Подвижни части</b></p> <p>За да избегнете контакт с движещи се части по време на работа на Rotor-Gene Q MDx, апаратът трябва да работи със затворен капак.</p>
--	--

<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Риск от наранявания и материални щети</b></p> <p>Отваряйте и затваряйте внимателно капака на Rotor-Gene Q MDx, за да избегнете притискане на пръсти или дрехи.</p>
--	--


<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Повреда на апарата</b></p> <p>Уверете се, че роторът и фиксиращият пръстен са монтирани правилно. Ако роторът или фиксиращият пръстен показват признаци на механични повреди или корозия, не използвайте Rotor-Gene Q MDx; свържете се с отдела за техническо обслужване на QIAGEN.</p>
--	---


<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Повреда на апарата</b></p> <p>Ако Rotor-Gene Q MDx бъде стартиран веднага след доставката в райони със студен климат, механичните части може да блокират.</p> <p>Оставете апарата да се аклиматизира към стайната температура поне за един час, преди да го включите.</p>
--	---

<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Повреда на апарата</b></p> <p>В случай на повреда, причинена от прекъсване на захранването, извадете захранващия кабел и изчакайте 10 минути, преди да се опитате да отворите ръчно капака.</p>
--	---

<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Риск от прегряване</b></p> <p>За да се осигури правилна вентилация, поддържайте минимално свободно разстояние от 10 cm от страни и зад Rotor-Gene Q MDx.</p> <p>Не се допуска покриване на прорезите и отворите, осигуряващи вентилацията на Rotor-Gene Q MDx.</p>
--	--


#### Опасност от топлина


<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Горещи повърхности</b></p> <p>Камерата на Rotor-Gene Q MDx може да достигне температури над 120°C. Избягвайте да я докосвате, когато е нагорещена.</p>
--	--


<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Горещи повърхности</b></p> <p>При поставяне на даден цикъл на пауза, Rotor-Gene Q MDx няма да се охлади напълно до стайна температура. Бъдете внимателни, преди да боравите с ротора или епруветките в апарата.</p>
--	---


## 2.7 Безопасност при поддръжка

Извършвайте поддръжката, както е описано в раздел 8. QIAGEN таксува потребителите за ремонти, които се налагат поради неправилна поддръжка.

<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ/ ВНИМАНИЕ</b></p> 	<p><b>Риск от наранявания и материални щети</b></p> <p>Извършвайте поддръжка само както е описано в това ръководство за потребителя.</p>
--	--











<b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b> 	<b>Опасност от пожар</b> Когато почиствате апарата Rotor-Gene Q MDx с дезинфектант на спиртна основа, оставете вратата на апарата отворена, за да позволите на запалимите пари да се разсеят.
--	--

<b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ/ ВНИМАНИЕ</b> 	<b>Риск от токов удар</b> Не разглобявайте апарата Rotor-Gene Q MDx.
--	---

<b>ВНИМАНИЕ</b> 	<b>Повреда на корпуса на апарата</b> Никога не почиствайте корпуса на апарата със спирт или спиртни разтвори. Това ще повреди корпуса. Използвайте само дестилирана вода за почистване на корпуса.
--	---

## 2.8 Символи на Rotor-Gene Q MDx

Следните символи може да се видят в ръководството за потребителя или върху опаковката и етикета:

Символ	Местоположение	Описание
	Близко до камерата за проби, видим при отворен капак	Опасност от топлина – температурата на камерата може да достигне над 120°C
	Задната част на апарата	Направете справка с инструкциите за употреба
	Фирмена табелка отзад на апарата	Маркировка „CE“ за съответствие със законодателството на Европейския съюз
	Фирмена табелка отзад на апарата	Медицинско изделие за инвитро диагностика
	Фирмена табелка отзад на апарата	Регистрационна маркировка „CSA“ за Канада и САЩ
	Фирмена табелка на десния страничен панел	Законен производител.
	Фирмена табелка на десния страничен панел	Директива ОЕЕО относно изхвърлянето на отпадъци от електрическо и електронно оборудване за Европа и останалия свят.
	Фирмена табелка на десния страничен панел	Маркировка FCC на United States Federal Communications Commission (Федерална комисия по комуникации на Съединените щати)
	Фирмена табелка на десния страничен панел	Маркировка „RCM“ (по-рано „C-Tick“) за Австралия (идентификационен номер на доставчика: 17965)
	Фирмена табелка на десния страничен панел	Маркировка „RoHS“ (ограничението за употреба на определени опасни вещества в електрическо и електронно оборудване) за Китай

## 3 Общо описание

Rotor-Gene Q MDx е иновативен апарат, който позволява високопрецизен real-time PCR и който е много подходящ за инвитро диагностика в комбинация с набори QIAGEN с маркировка CE-IVD.

Мощният и лесен за използване софтуер осигурява простота за начинаещи, както и отворена експериментална платформа за потребители с разширени права.

### 3.1 Принцип на Rotor-Gene Q MDx

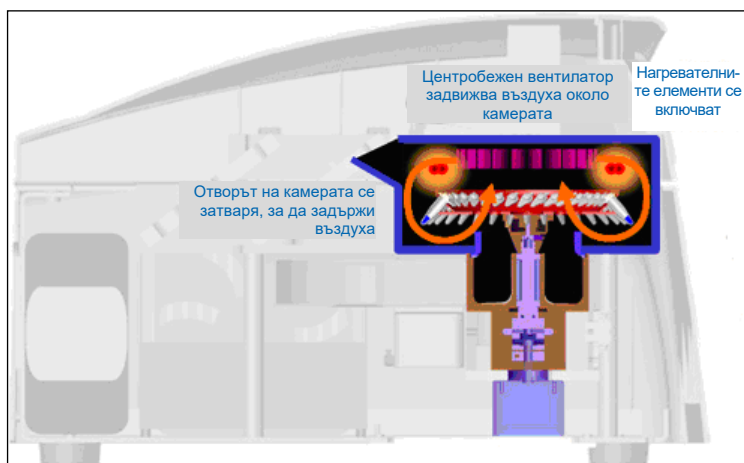
#### 3.1.1 Топлинни характеристики

Rotor-Gene Q MDx използва усъвършенстван дизайн за отопление и охлаждане за постигане на оптимални условия на реакцията. Уникалният ротационен формат осигурява оптимална термична и оптична еднородност между пробите, което е от решаващо значение за извършването на прецизен и надежден анализ.

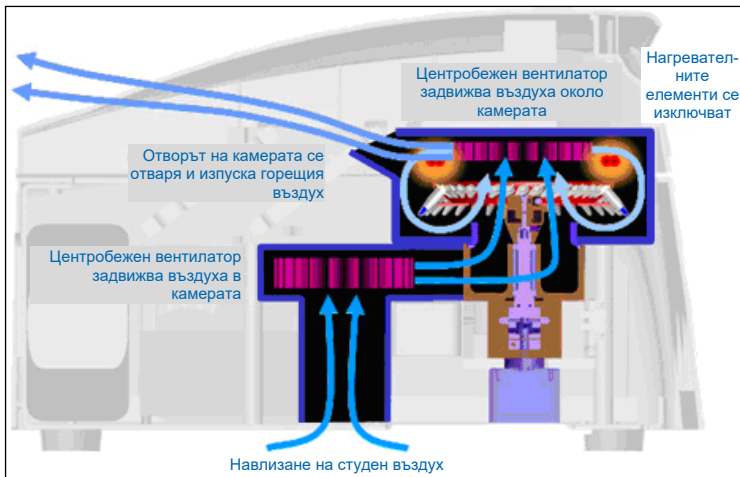
По време на работа пробите се въртят непрекъснато със скорост от 400 об./мин. Центрофугирането предотвратява кондензацията и премахва въздушните мехурчета, но не пелетира ДНК. Освен това не е необходимо пробите да се центрофугират преди цикъл.

Пробите се нагряват и охлаждат в пещ с ниска маса на въздуха. Нагряването се постига чрез никел-хромен елемент, разположен в капака. Камерата се охлажда чрез изпускане на въздуха през горната част на камерата, докато околният въздух се издухва през основата.

#### Нагряване



## Охлаждане



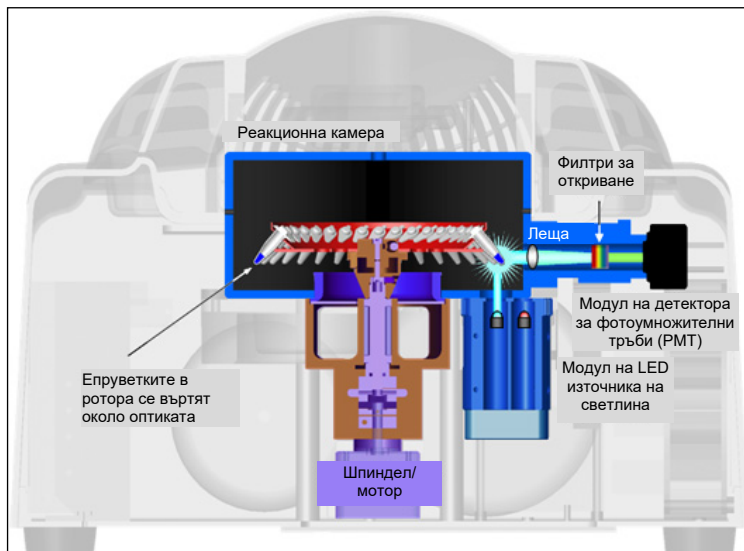
Илюстрация на системата за нагряване и охлаждане.

### 3.1.2 Оптична система

С избор от до 6 източника на възбуждане и 6 филтъра за откриване, комбинирани с къс, фиксиран оптичен път, Rotor Gene Q MDx може да се използва за мултиплексни реакции, осигурявайки минимална променливост на флуоресценцията между пробите и елиминирайки необходимостта от калибриране или компенсация.

Пробите се възбуждат от дъното на камерата от светодиод. Енергията се предава през тънките стени в основата на епруветката. Излъчената флуоресценция преминава през емисионни филтри от страни на камерата и след това се събира от фотоумножител. Фиксираният оптичен път осигурява последователно възбуждане за всяка проба, което означава, че няма нужда от използване на пасивно вътрешно референтно багрило като ROX™.





Илюстрация на оптичната система.

### 3.1.3 Налични канали

Канал	Възбуждане (nm)	Откриване (nm)	Примери за открити флуорофори
Blue	365 ± 20	460 ± 20	Marina Blue®, Edans Bothell Blue, Alexa Fluor® 350, AMCA-X, ATTO 390
Green	470 ± 10	510 ± 5	FAM®, SYBR® Green I, Fluorescein, EvaGreen®, Alexa Fluor 488
Yellow	530 ± 5	557 ± 5	JOE™, VIC®, HEX™, TET™, CAL Fluor® Gold 540, Yakima Yellow®
Orange	585 ± 5	610 ± 5	ROX, CAL Fluor Red 610, Cy®3.5, Texas Red®, Alexa Fluor 568
Red	625 ± 10	660 ± 10	Cy5, Quasar® 670, LightCycler® Red640, Alexa Fluor 633
Crimson	680 ± 5	712 висока честота	Quasar 705, LightCycler Red705, Alexa Fluor 680
Топене с висока разделителна способност (High resolution melt, HRM)	460 ± 20	510 ± 5	SYBR Green I, SYTO®9, LC Green®, LC Green Plus+, EvaGreen

**Забележка:** Наборите QIAGEN, предназначени за използване с апаратите Rotor-Gene Q MDx, са оптимизирани по отношение на определени комбинации от багрила. Моля, вижте съответните наръчници за наборите за повече информация.

## 3.2 Външни характеристики на Rotor-Gene Q MDx



- |                             |  |
|-----------------------------|--|
| 1 Въздушни отвори на капака | 3 Камера на ротора                               |
| 2 Дръжка на капака          | 4 Светлинни индикатори за състоянието на апарата |

### 3.2.1 Въздушни отвори на капака

Rotor-Gene Q има вентилационни отвори в задната част на капака на апарата. Тези вентилационни отвори позволяват на апарата да отвежда топлината от камерата по време на работа. Запушването или недостатъчното свободно разстояние около вентилационните отвори може да повлияе на работата на апарата.

### 3.2.2 Дръжка на капака

Дръжката на капака се използва за плъзгане на капака на апарата назад. Тази дръжка не е предназначена да издържа тежестта на апарата и не трябва да се използва за повдигането му.

### 3.2.3 Камера на ротора

Камерата на ротора е мястото, където роторите се зареждат и преминават през програмираните стъпки за нагряване и циклизиране.

### 3.2.4 Светлинни индикатори за състоянието на апарата

Налице са два индикатора за състоянието на Rotor-Gene Q. Индикаторът за режим на готовност показва, че апаратът не се използва. Светлинният индикатор за обработка мига, когато Rotor-Gene Q се използва.

### 3.3 Вътрешни характеристики на Rotor-Gene Q MDx



Вътрешен изглед на камерата на Rotor-Gene Q

- 1 Роторна глава      2 Оптична леща

#### 3.3.1 Роторна глава

Главата на ротора го държи на място в апарата.

#### 3.3.2 Оптична леща

Оптичната леща, където светлината на диода на възбуждане е фокусирана върху епруветките.

## 4 Процедури за инсталиране

### 4.1 Доставка и монтаж на системата

По време на монтирането трябва да присъства лице, което е запознато с лабораторното и компютърното ви оборудване.

Доставката включва следните артикули:

- Апарат Rotor-Gene Q MDx
- *Ръководство за потребителя на Rotor-Gene Q MDx*
- Работна станция
- Софтуер Rotor-Gene Q MDx (ще бъде инсталиран от специалист на QIAGEN по обслужване на място по време на първоначалната настройка)

#### 4.1.1 Разопаковане на Rotor-Gene Q MDx

Rotor-Gene Q MDx се доставя с всички необходими компоненти за настройка и работа на апарата. Кутията съдържа и списък на всички предоставени компоненти.

**Забележка:** Проверете този списък за пълнота, за да сте сигурни, че всички компоненти са налични.

**Забележка:** Преди монтажа проверете апарата и доставените аксесоари за повреди при транспортиране.

Кутията за аксесоари се намира от горната страна на опаковката от пяна. Кутията с аксесоари съдържа:

- Ръководство за инсталиране (на английски; налични преводи на преносими информационни носители с ръководства)
- Преносим информационен носител (софтуер)
- Преносим информационен носител (ръководства)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (демантиран за безопасен транспорт)
- 36-Well Rotor (този ротор е червен на цвят)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Следните артикули са опаковани и се намират от всяка от страните на опаковката от пяна:

- USB и RS-232 сериен кабел
- Комплект международен захранващ кабел
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

След като всички тези компоненти са извадени от кутията, отстранете пяната от горната страна на Rotor-Gene Q MDx. Внимателно извадете Rotor-Gene Q MDx от кутията и разопакувайте пластмасовия капак. Отворете капака, като го плъзнете назад, за да получите достъп до реакционната камера.


Следните елементи вече са инсталирани в Rotor-Gene Q MDx:

- 72-Well Rotor (този ротор е син на цвят)
- 72-Well Rotor Locking Ring

В опаковката може да бъде включен лаптоп, в зависимост от детайлите на поръчката ви.

#### 4.1.2 Хардуерна инсталация

След като Rotor-Gene Q MDx бъде разопакуван, продължете с инсталацията, както е описано по-долу.

<p><b>ВНИМАНИЕ</b></p> 	<p><b>Повреда на апарата</b></p> <p>Ако Rotor-Gene Q MDx бъде стартиран веднага след доставката в райони със студен климат, механичните части може да блокират. Оставете апарата да се аклиматизира към стайната температура поне за един час, преди да го включите.</p>
--	--

Изпълнете следното:

1. Поставете Rotor-Gene Q MDx на равна повърхност.
2. Уверете се, че зад апарата има достатъчно място, така че капакът да може да се отвори напълно.
3. Уверете се, че превключвателят на захранването в задната част на апарата е лесно достъпен.

4. Задната част на апарата трябва да е свободна. Уверете се, че захранващият кабел може лесно да се извади, ако е необходимо, за да изключите захранването на апарата.
5. Свържете предоставения USB или RS-232 серийен кабел към USB или комуникационния порт в задната част на компютъра.
6. Свържете USB или RS-232 серийния кабел към порта в задната част на Rotor-Gene Q MDx.
7. След това свържете Rotor-Gene Q MDx към захранването. Свържете единия край на захранващия кабел към гнездото, разположено в задната част на Rotor-Gene Q MDx, а другия край към контакта за променливотоково захранване.

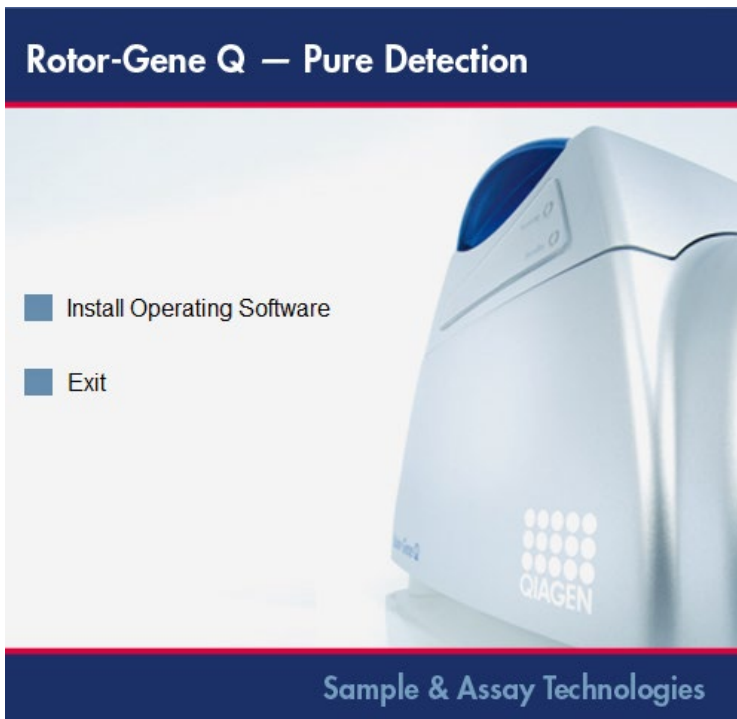


**Забележка:** Свързвайте Rotor-Gene Q MDx към компютър само с помощта на USB и серийните кабели, доставени с апарата. Не използвайте други кабели.

#### 4.1.3 Инсталиране на софтуера

1. За да инсталирате софтуера Rotor-Gene Q, изтеглете софтуера от **QIAGEN.com** и го запишете на компютъра чрез свободен от вируси преносим информационен носител или поставете преносимия информационен носител (софтуер), доставен с апарата, в компютъра.
2. Ако инсталацията на софтуера стартира автоматично, изберете **Install Operating Software** (Инсталиране на операционния софтуер) в прозореца, който се показва, или отидете до папката на софтуера RGQ на подвижния носител.

**Забележка:** Моля, вижте *Ръководството за инсталиране на Rotor-Gene Q*, предоставено с апарата, за безпроблемна инсталация и за насоки през следващите стъпки за инсталиране на софтуера.



3. След като софтуерът бъде инсталиран, автоматично ще бъде създадена икона на работния плот.
4. Включете Rotor-Gene Q MDx, като преместите превключвателя, разположен в задната част на апарата наляво, в позиция „I“. Синята лампичка „Standby“ (Режим на готовност) в предната част на Rotor-Gene Q MDx показва, че апаратът е готов за употреба.

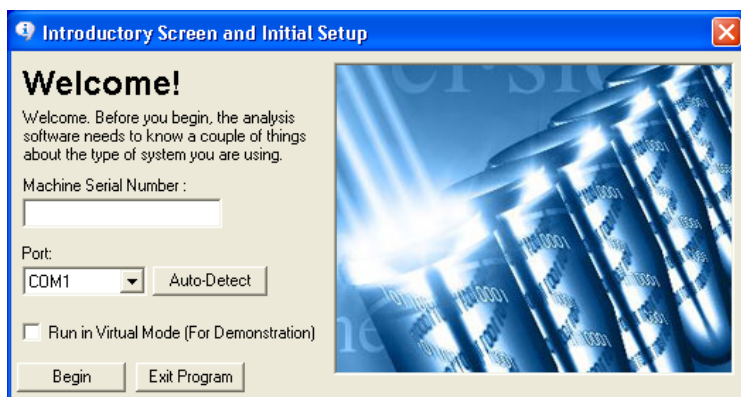
**Забележка:** Когато стартирате свързване към компютър за първи път, Rotor-Gene Q MDx ще бъде разпознат от операционната система и ще се появят няколко съобщения. Моля, направете справка с *Ръководството за инсталиране на Rotor-Gene Q*, предоставено с апарата (преносим информационен носител и печатно издание) за насоки.



5. Кликнете два пъти върху иконата на работния плот на софтуера **Rotor-Gene Q Series Software**, за да стартирате софтуера.



6. При първото стартиране на софтуера се появява диалогов прозорец, който ви поздравява с „Добре дошли“, но не се появява за последващи надстройки на софтуера.



**Machine Serial Number** (Сериен номер на апарата): Въведете серийния номер (7 цифри), който може да се намери на гърба на Rotor-Gene Q MDx.

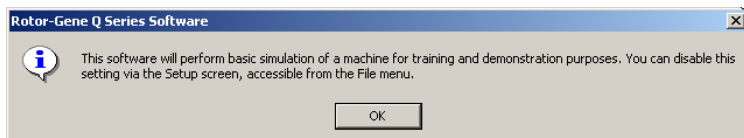
**Port (Порт):** Изберете или USB, или сериен кабел. Изберете подходящия комуникационен порт или кликнете върху бутона **Auto-Detect** (Автоматично откриване).

**Auto-Detect (Автоматично откриване)** Ако използвате тази опция, съответният USB или сериен порт ще бъде открит автоматично и ще се покаже в падащия списък **Port** (Порт).

**Run in Virtual Mode** (Стартиране във виртуален режим) (за демонстрация): Поставянето на отметка в това квадратче позволява инсталиране на софтуера Rotor-Gene Q на компютър, който не е свързан към Rotor-Gene Q MDx. Софтуерът е напълно функционален и може да симулира цикли.

**Забележка:** В случай, че квадратчето е отменено и Rotor-Gene Q MDx е свързан към компютъра, се появява следното съобщение, преди стартирането на цикъла: **You are about to run in Virtual mode** (На път сте да стартирате във виртуален режим). За да извършите реален цикъл, е необходимо да промените настройката в прозореца **Setup** (Настройване) (вижте раздел 6.5.4).

**Begin (Начало):** Когато цялата информация е въведена, кликнете върху **Begin** (Начало). Изчакайте, докато инициализацията приключи, което може да отнеме няколко секунди. Ако е избран виртуален режим, се появява следното съобщение:



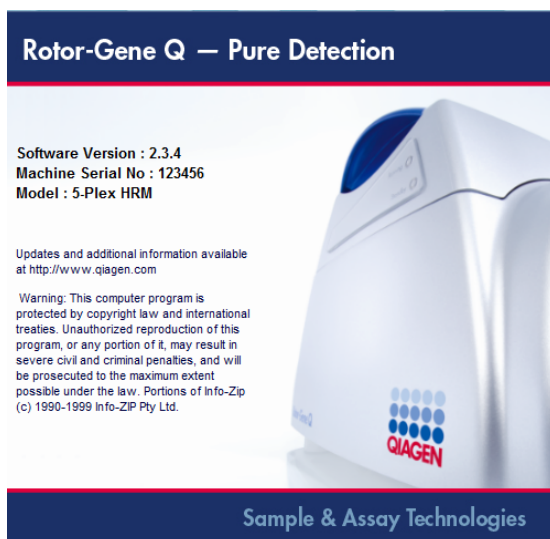
В случай че квадратчето **Run in Virtual Mode** (Стартиране във виртуален режим) не е отменено, софтуерът се инициализира и се отваря автоматично.

**Exit Program** (Изход от програмата): Кликнете върху този бутон, за да излезете от програмата.



#### 4.1.4 Версия на софтуера

За да разберете номера на вашата версия, кликнете върху **Help** (Помощ) и след това върху **About This Software...** (Информация за софтуера...).



Този прозорец показва обща информация за софтуера, включително версията на софтуера, серийния номер и модела на апарата.

Софтуерът може да бъде свободно копиран за използване в рамките на организация, която притежава Rotor-Gene Q MDx. Софтуерът не може да бъде копиран и разпространяван на други лица извън организацията.

#### 4.1.5 Допълнителен софтуер на компютри, свързани към апарати Rotor-Gene Q MDx

Софтуерът Rotor-Gene Q управлява критични във времето процеси по време на PCR цикъл и процеса на получаване на данни. Поради тази причина е важно да се гарантира, че други процеси не използват значителни системни ресурси, забавяйки работата на софтуера Rotor-Gene Q. Особено важно е да се обърне внимание на точките, изброени по-долу.

Системните администратори се съветват да обмислят всяко въздействие, което дадена модификация на системата може да има върху ресурсите, преди да я внедрят.

## Антивирусен софтуер

От QIAGEN сме наясно със заплахата, която компютърните вируси причиняват на всеки компютър, който обменя данни с други компютри. Очаква се софтуерът Rotor-Gene AssayManager (версия 1.0 или 2.1) да бъде инсталиран предимно в среди, където са налице местни политики, за да се минимизира тази заплаха. Въпреки това от QIAGEN препоръчваме използване на антивирусен софтуер по всяко време.

Изборът и инсталирането на подходящ инструмент за сканиране за вируси е отговорност на клиента. От QIAGEN обаче сме утвърдили съвместимостта на софтуера Rotor-Gene Q с лаптопа QIAGEN в комбинация със следния антивирусен софтуер:

- Microsoft Defender, клиентска версия 4.18.2005.5

Моля, вижте продуктовата страница на адрес [QIAGEN.com](http://QIAGEN.com) за най-новите версии на антивирусен софтуер, които са утвърдени за употреба в комбинация със софтуера Rotor-Gene Q и Rotor-Gene AssayManager, версия 1.0 или 2.1.

Ако е избран антивирусен софтуер, уверете се, че той може да бъде конфигуриран по начин, по който пътят на папката с базата данни може да бъде изключен от сканирането. В противен случай съществува риск от грешки при свързването на базата данни. Тъй като версии 1.0 и 2.1 на Rotor-Gene AssayManager създават динамично нови архиви от база данни, е необходимо да се изключи пътят на папката към файловете, а не единични файлове. Не препоръчваме използването на антивирусен софтуер, където могат да бъдат изключени само единични файлове, например McAfee Antivirus Plus V16.0.5. Ако компютърът се използва в среда без достъп до мрежата, моля, уверете се също, че антивирусният софтуер поддържа офлайн актуализации.

За да получат последователни резултати след инсталиране на антивирусен софтуер, системните администратори трябва да осигурят следното:

- Както беше обяснено по-горе, пътят на папката с базата данни на Rotor-Gene AssayManager 1.0 и 2.1 (**C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10\_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA**) трябва да бъде изключен от сканирането на файлове.
- Актуализациите на базата данни за вируси не се извършват, когато се използва Rotor-Gene AssayManager 1.0 или 2.1.
- Моля, уверете се, че пълното или частичното сканиране на твърдия диск е деактивирано по време на получаване на данните от real-time PCR. В противен случай съществува риск от неблагоприятно въздействие върху работата на апарата.

Моля, прочетете ръководството на избория от вас антивирусен софтуер за подробности относно конфигурацията.

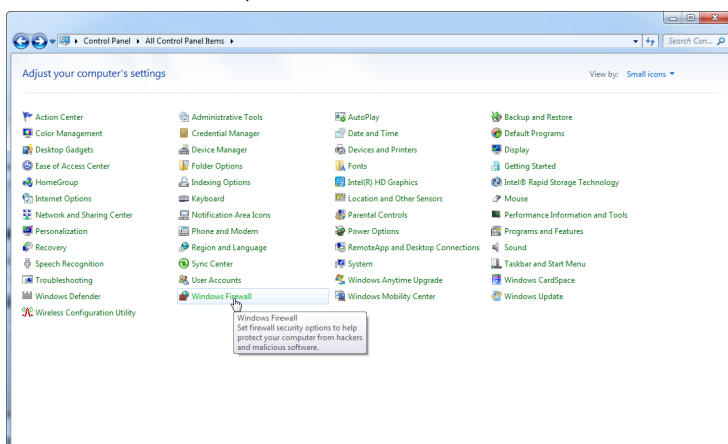
## Защитна стена и мрежи

Софтуерът Rotor-Gene Q може да работи или на компютри без достъп до мрежата, или в мрежова среда, ако се използва отдалечен сървър за база данни. За мрежова работа защитната стена на преносимия компютър, предоставена от QIAGEN, е конфигурирана по такъв начин, че входящият трафик се блокира за всички портове, с изключение на тези, необходими за установяване на мрежова връзка.

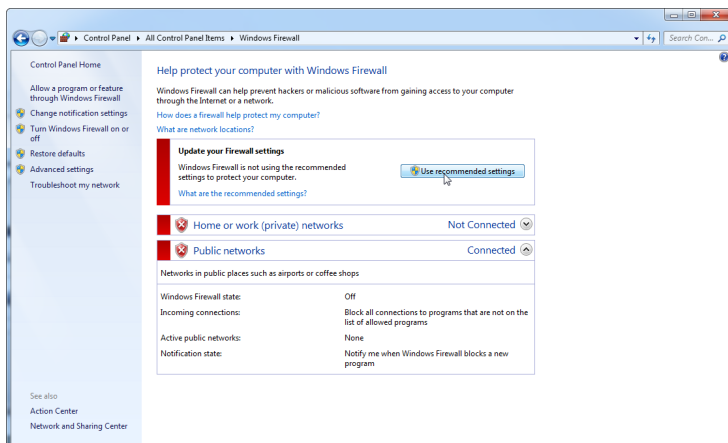
Моля, имайте предвид, че блокирането на входящите връзки не засяга отговорите на задействани от потребителя заявки. Изходящите връзки са разрешени, защото може да са необходими за извличане на актуализации.

Ако конфигурацията ви е различна, QIAGEN препоръчва да конфигурирате защитната стена по начина, описан по-горе. За тази цел системният администратор трябва да влезе и да изпълни следните стъпки:

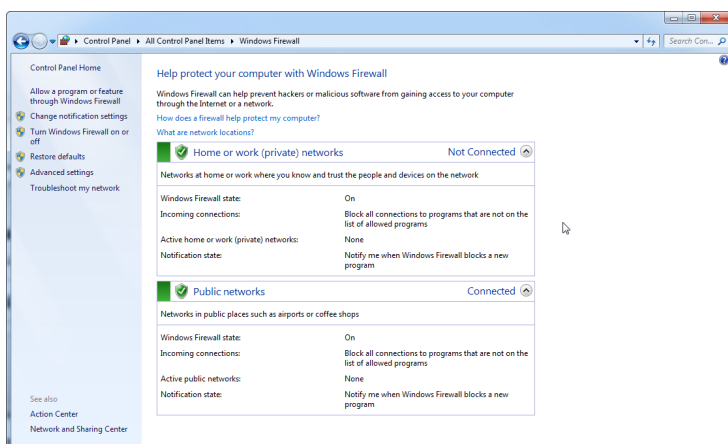
1. Отворете **Control Panel** (Контролен панел) и изберете **Windows Firewall** (Защитна стена на Windows).



## 2. Изберете **Use recommended settings** (Използване на препоръчани настройки).

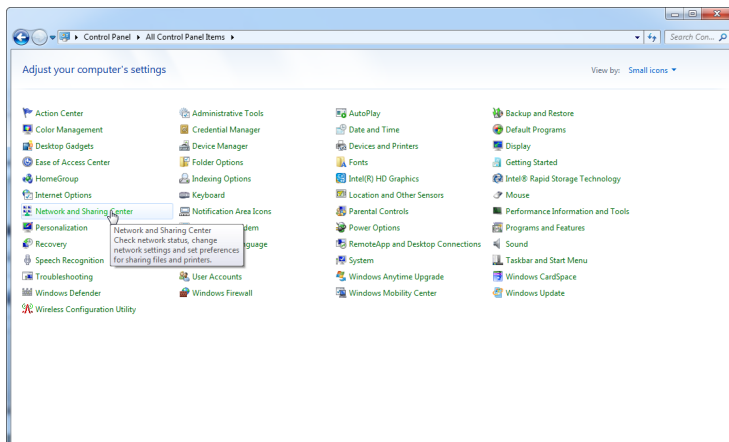


## 3. Проверете дали следните настройки са активни:

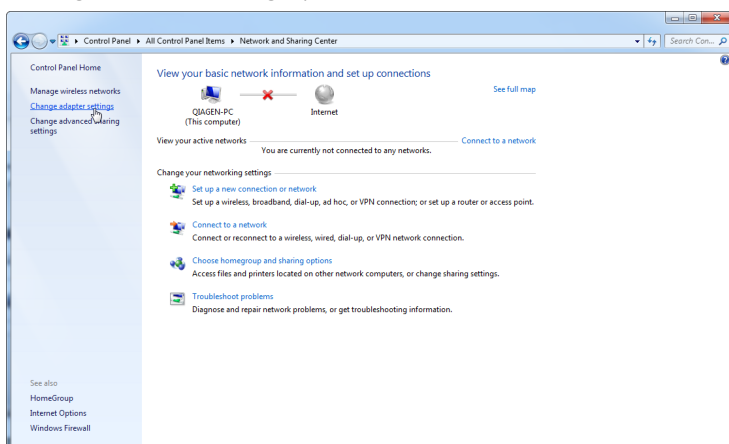


От съображения за сигурност и надеждност трябва да се използва кабелен достъп до мрежата вместо Wi-Fi. Преносимите компютри, предоставени от QIAGEN, са с деактивиран Wi-Fi адаптер. Ако конфигурацията ви е различна, системният администратор трябва да деактивира Wi-Fi адаптера ръчно, като изпълни следните стъпки:

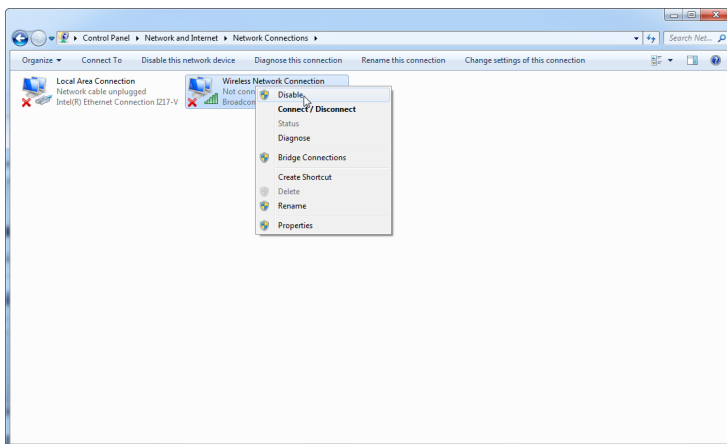
1. Отворете **Control Panel** (Контролен панел) и изберете **Network and Sharing Center** (Център за мрежи и споделяне).



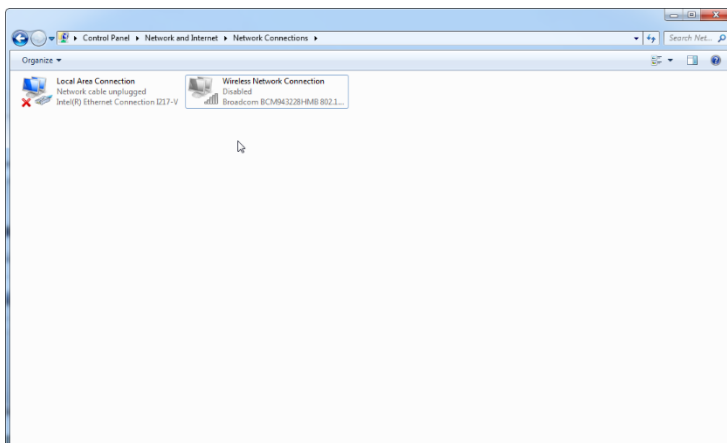
2. Изберете **Change adapter settings** (Промяна на настройките на адаптера).



3. Задръжте курсора на мишката върху **Wireless Network Connection** (Безжична мрежова връзка), натиснете десния бутон на мишката и изберете **Disable** (Деактивиране) от контекстното меню.



4. Проверете дали безжичната мрежова връзка е деактивирана.



## Системни инструменти

Много системни инструменти могат да използват значителни системни ресурси дори без никакво взаимодействие с потребителя. Типични примери за такива инструменти са:

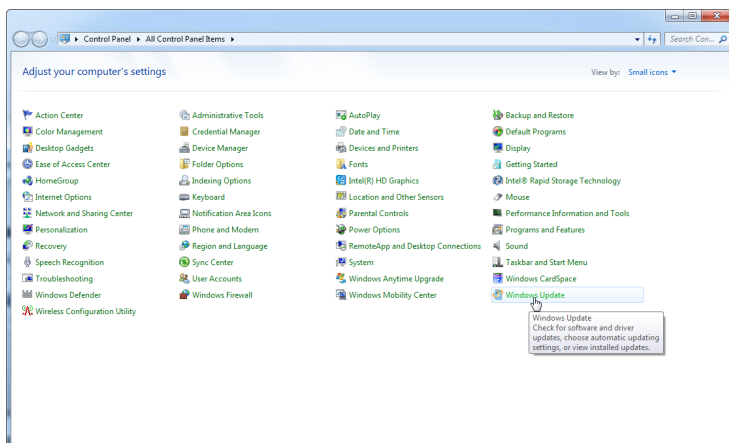
- индексирание на файлове, което се изпълнява във фонов режим от много съвременни офис приложения;
- дефрагментация на диска, която често се извършва във фонов режим;
- всеки софтуер, който проверява за актуализации в интернет;
- инструменти за дистанционно наблюдение и управление.

Моля, имайте предвид, че поради динамичния характер на света на информационните технологии, този списък може да не е пълен и да бъдат пуснати инструменти, които не са известни към момента на писане. Важно е системните администратори да се погрижат такъв инструмент да не е активен по време на PCR цикъл.

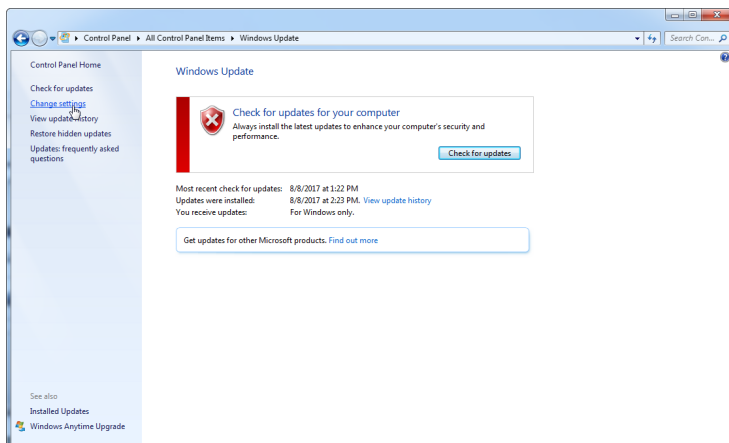
## Актуализации на операционната система

Преносимите компютри, предоставени от QIAGEN, са конфигурирани така, че автоматичните актуализации на операционната система са деактивирани. Ако конфигурацията ви е различна, системният администратор трябва да деактивира всеки процес на автоматично актуализиране на операционната система, като изпълни следните стъпки:

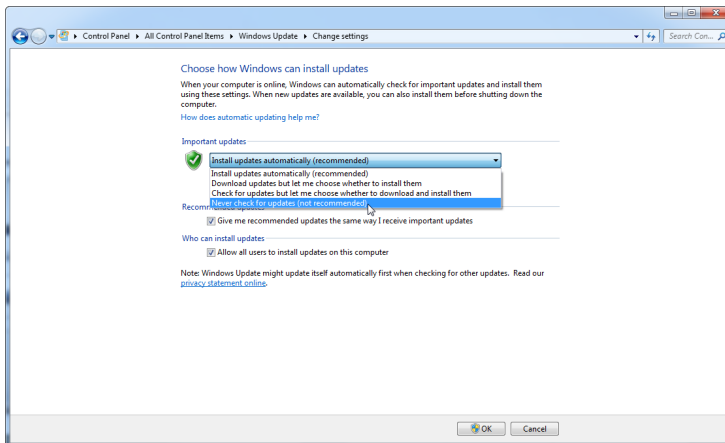
1. Отворете **Control Panel** (Контролен панел) и изберете **Windows Update** (Актуализация на Windows).



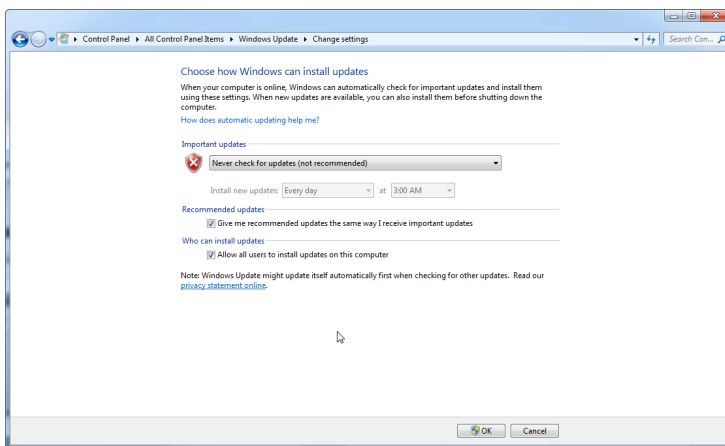
2. Изберете **Change settings** (Промяна на настройките).



3. Изберете **Never check for updates** (Никога да не се проверява за актуализации).



4. Проверете дали опцията **Never check for updates** (Никога да не се проверява за актуализации) в **Important updates** (Важни актуализации) е активна.



В случай, че са необходими актуализации поради разкрити уязвимости в сигурността, QIAGEN предоставя механизми за инсталиране на определен набор от валидирани корекции за сигурност на Windows, онлайн (ако интернет връзка е налична на лаптопа QIAGEN) или като офлайн пакет, подготвен на отделен компютър с интернет връзка.

Моля, посетете продуктова страница на адрес **QIAGEN.com** за повече информация.




## 4.2 Изисквания към мястото


Апаратите Rotor-Gene Q MDx трябва да се разполагат на място без пряка слънчева светлина, далеч от източници на топлина, вибрации и електрически смущения. Вижте Приложение А за информацията относно условията за работа (температура и влажност). Мястото на монтажа трябва да е без прекомерно течение, влага и прах и да няма големи температурни колебания.

Вижте Приложение А за информацията относно теглото и размерите на апаратите Rotor-Gene Q MDx. Уверете се, че работният плот е сух, чист и има допълнително място за аксесоари. За допълнителна информация относно необходимите спецификации на работния плот се свържете с отдела за техническо обслужване на QIAGEN.

**Забележка:** Изключително важно е апаратът Rotor-Gene Q MDx да бъде поставен върху стабилна повърхност, която е равна и без вибрации. Вижте условията на работа – вижте Приложение А.

Апаратът Rotor-Gene Q MDx трябва да бъде поставен на приблизително 1,5 m от правилно заземен електрически контакт за променлив ток.

<p><b>ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Взривоопасна атмосфера</b></p> <p>Апаратът Rotor-Gene Q MDx не е предназначен за употреба във взривоопасна атмосфера.</p>
--	---

<p><b>ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Риск от прегряване</b></p> <p>За да се осигури правилна вентилация, поддържайте минимално свободно разстояние от 10 cm зад апарата Rotor-Gene Q MDx.</p> <p>Не се допуска покриване на прорезите и отворите, осигуряващи вентилацията на апарата Rotor-Gene Q MDx.</p>
--	--

---

## 4.3 Връзка с променливотоково захранване

### 4.3.1 Изисквания към захранването

Rotor-Gene Q MDx работи при:

- 100 – 240 V AC при 50 – 60Hz, 520 VA (пикова)

Уверете се, че номиналното напрежение на Rotor-Gene Q MDx е съвместимо с променливото напрежение, налично на мястото за инсталиране. Колебанията в напрежението на мрежовото електрозахранване не трябва да надвишават 10% от номиналните захранващи напрежения.

### 4.3.2 Изисквания за заземяване

За защита на обслужващия персонал, от QIAGEN препоръчват апаратът Rotor-Gene Q MDx да бъде правилно заземен. Апаратът е оборудван с 3-проводников захранващ кабел за променлив ток, който след свързване към подходящ електрически контакт, заземява апарата. За да запазите тази защитна функция, не свързвайте апарата към електрически контакт за променлив ток, който няма заземяване.

### 4.3.3 Монтаж на захранващ кабел за променлив ток

Свържете единия край на захранващия кабел към гнездото, разположено в задната част на апарата Rotor-Gene Q MDx, а другия край към контакта за променливотоково захранване.

## 4.4 Конфигурация на настройките за сигурност на Windows

Преносимите компютри, предоставени от QIAGEN за използване с вашия апарат Rotor-Gene Q MDx, може да имат предварително инсталиран Microsoft Windows 7 или Windows 10 и са конфигурирани със стандартен (неадминистративен) потребителски профил на Windows и администраторски профил. При рутинна употреба на системата се използва стандартният профил, тъй като софтуерът Rotor-Gene Q и Rotor-Gene AssayManager, версия 1.0 или 2.1, са проектирани да работят без администраторски права. Администраторският профил (този с червения фон на работния плот) ще се използва само за инсталиране на софтуера Rotor-Gene Q или Rotor-Gene AssayManager, версия 1.0 или 2.1, и Допълнителен софтуер на компютри, свързани към апарати Rotor-Gene Q MDx (вижте раздел „Антивирусен софтуер“). Използването на администраторския профил е обозначено с червен фон на работния плот. Моля, уверете се, че винаги влизате като стандартен потребител за рутинна употреба.

Q1a#g3n!A6 е паролата по подразбиране на администраторския профил. Моля, променете администраторската парола след първото влизане. Моля, уверете се, че паролата е сигурна и няма да бъде загубена. Няма парола за профила на оператора.

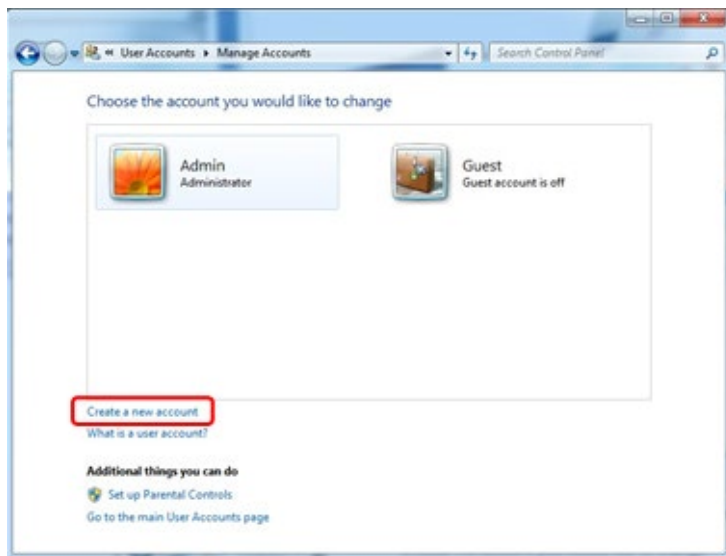
Ако загубите паролата на администратор на лаптопа, бихме ви посъветвали да се свържете с Microsoft за поддръжка.

Ако конфигурацията ви е различна и не се съдържа неадминистративен профил, системните администратори трябва да създадат допълнителен стандартен потребителски профил на Windows, за да предотвратят достъпа до критични системни области като програмни файлове, директория на Windows (напр. достъп до функционалност за инсталиране или деинсталиране, включително приложения, компоненти на операционната система, настройки за дата/час, актуализации на Windows, защитна стена, потребителски права и роли, антивирусно активиране) или настройки, свързани с ефективността, като пестене на енергия.

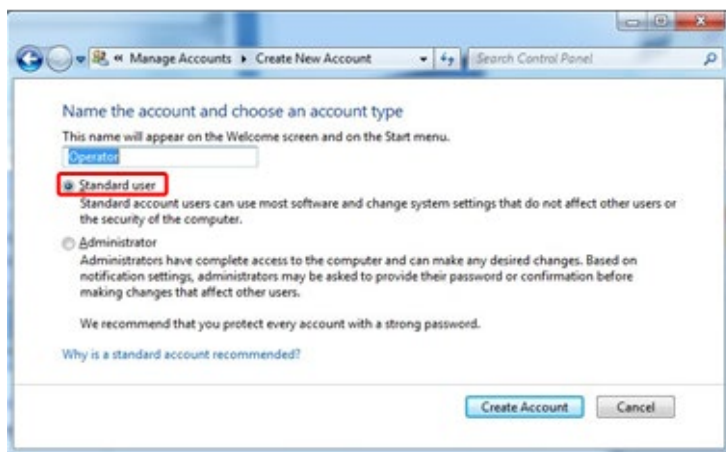
За да създадете стандартен потребителски профил в Windows 7, моля, следвайте стъпките, описани в раздел „Създаване на нов потребителски профил“:

Отворете контролния панел на Windows през менюто **Start** (Стартиране) и изберете **User Accounts** (Потребителски профили) > **Manage Accounts** (Управление на профили).

1. Изберете **Create a new account** (Създаване на нов профил).



2. Дайте име на профила и изберете **Standard User** (Стандартен потребител) за тип на профила.



3. Кликнете върху **Create Account** (Създаване на профил).

## 4.5 Изисквания към работната станция

Преносимият компютър, доставен по избор с Rotor-Gene Q MDx, отговаря на изискванията на софтуера Rotor Gene Q, описани подробно в следващата таблица.

### Системни изисквания към работната станция

Описание	Минимално изискване
Операционна система	Microsoft® Windows® 10 Professional edition (64 bit); Microsoft Windows 7 Professional edition (32 bit или 64 bit)* (Service Pack 1)
Процесор	Intel® Core™ 2 Duo 1,66 GHz или по-бърз
Главна памет	Минимум 1 GB RAM
Пространство на твърдия диск	Минимум 10 GB HDD
Графика	Адаптер и екран с най-малко 1200 x 800 пиксела
Портове	RS-232 сериен порт или USB порт
Сочещо устройство	Необходимо е сензорен панел, мишка или еквивалентно устройство
Bluetooth	Трябва да бъде изключен
Програма за преглед на PDF файлове или подобно приложение	Трябва да се инсталира; не е част от пакетите за инсталиране на софтуера
Опции за захранването	Никога не изключвайте твърдите дискове, не поставяйте в хибернация и не преминавайте в режим на готовност

\* Необходима е версия на Microsoft Windows 10 или Windows 7 Professional за стартиране на софтуера Rotor-Gene Q с функции за сигурност (вижте раздел 6.9). Функциите за сигурност не са налични, ако се използва Home Edition на Windows 10 или Windows 7.

† Ако използвате софтуера Rotor-Gene AssayManager®, версия 1.0 или 2.1, следните минимални изисквания за компютър са различни: Процесор Intel Core i3-380M, 4 GB RAM главна памет, 250 GB място на твърдия диск, необходим е USB порт.

## 4.6 Разопаковане и инсталиране на Rotor-Gene Q MDx

Rotor-Gene Q MDx се доставя с всички необходими компоненти за настройка и работа на апарата. Кутията съдържа и списък на всички предоставени компоненти.

**Забележка:** Проверете този списък за пълнота, за да сте сигурни, че всички компоненти са налични.

**Забележка:** Преди монтажа проверете апарата и доставените аксесоари за повреди при транспортиране.

Кутията за аксесоари се намира от горната страна на опаковката от пяна. Кутията с аксесоари съдържа:

- Ръководство за инсталиране (на английски; налични преводи на преносими информационни носители с ръководства)
- Преносим информационен носител (софтуер)
- Преносим информационен носител (ръководства)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (демантиран за безопасен транспорт)
- 36-Well Rotor (този ротор е червен на цвят)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Следните артикули са опаковани и се намират от всяка от страните на опаковката от пяна:

- USB и RS-232 сериен кабел
- Комплект международен захранващ кабел
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

След като всички тези компоненти са извадени от кутията, отстранете пяната от горната страна на Rotor-Gene Q MDx. Внимателно извадете Rotor-Gene Q MDx от кутията и разопакувайте пластмасовия капак. Отворете капака, като го плъзнете назад, за да получите достъп до реакционната камера.

Следните елементи вече са инсталирани в Rotor-Gene Q MDx:

- 72-Well Rotor (този ротор е син на цвят)
- 72-Well Rotor Locking Ring

В опаковката може да бъде включен лаптоп, в зависимост от детайлите на поръчката ви.

#### 4.6.1 Надстройка на софтуера

Софтуерните актуализации са достъпни от уеб сайта на QIAGEN на адрес <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>, който може да бъде достъпен и от менюто **Help** (Помощ) в софтуера. За да изтеглите софтуера, е необходима онлайн регистрация.

---

## 4.7 Аксесоари

Ротационните дискове Rotor-Disc и аксесоарите могат да бъдат поръчани отделно за използване с Rotor-Gene Q MDx. За повече подробности вижте раздел 16.

## 4.8 Повторно опаковане и транспортиране на Rotor-Gene Q MDx

В случай на повторно опаковане Rotor-Gene Q MDx с цел транспортиране, е необходимо да използвате оригиналните опаковъчни материали. Ако не разполагате с оригиналните опаковъчни материали, се обърнете към отдела за техническо обслужване на QIAGEN. Уверете се, че апаратът е подготвен правилно (вижте „Поддръжка“) преди опаковането и че не създава биологична или химична опасност.


## 4.9 Първи стъпки


### 4.9.1 Стартиране на Rotor-Gene Q MDx и работната станция

Уверете се, че Rotor-Gene Q е свързан към ноутбука чрез USB или RS-232 порт и както ноутбукът, така и Rotor-Gene Q са свързани и включени към захранването.

## 5 Операционни процедури

Преди да продължите, препоръчваме ви да се запознаете с характеристиките на апарата, като направите справка с раздел 3.

<p><b>ВНИМАНИЕ</b></p> 	<p><b>Повреда на апарата</b></p> <p>При работа с Rotor-Gene Q MDx използвайте само проточни клетки и консумативи на QIAGEN. Повреда, причинена от използването на други типове проточни клетки или консумативи, ще анулират вашата гаранция.</p>
--	--

<p><b>ВНИМАНИЕ</b></p> 	<p><b>Риск от материални щети</b></p> <p>Избягвайте да местите работния плот и да причинявате вибрации на Rotor-Gene Q MDx по време на работа, за да предотвратите смущаване на чувствителните оптични измервания.</p>
---	--

### 5.1 Използване на софтуера на Rotor-Gene Q MDx

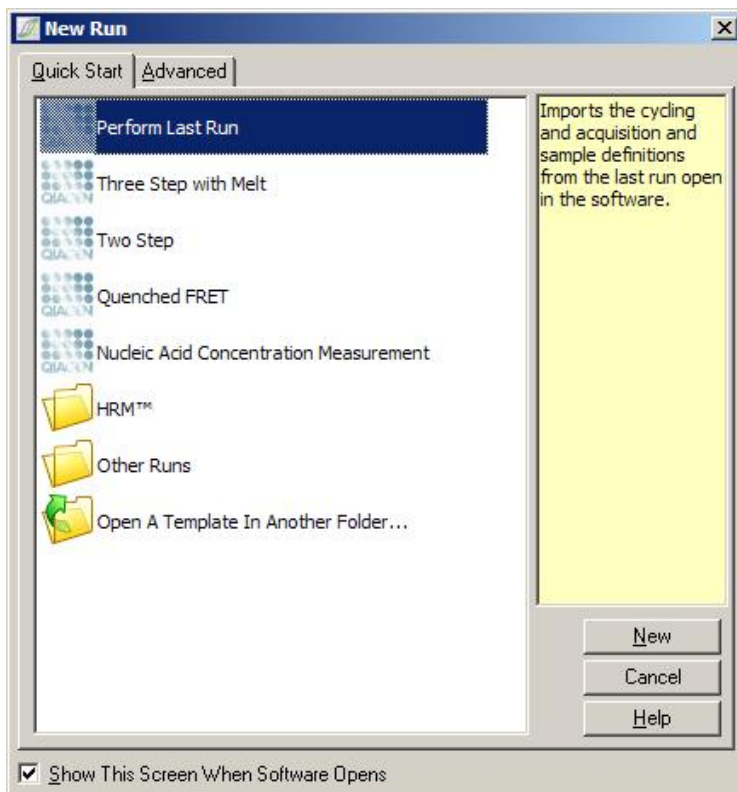
Настройването на нови цикли става с помощта на съветника за Quick Start (Бърз старт) или разширения съветник, които се появяват при стартиране на софтуера. Съветникът за Quick Start (Бърз старт) е предназначен да позволи на потребителя да започне даден цикъл възможно най-бързо. Съветникът за Advanced (Разширени) позволява повече опции, като например конфигуриране на оптимизирането на усилването и настройки на силата на звука. За удобство, съветниците разполагат с редица шаблони с условия за циклизиране по подразбиране и канали за получаване. За да промените типа на съветника, изберете съответния раздел в горната част на прозореца **New Run** (Нов цикъл).

#### 5.1.1 Съветник за бързо стартиране

Съветникът за Quick Start (Бърз старт) позволява на потребителя да започне даден цикъл възможно най-бързо. Потребителят може да избира от набор от често използвани шаблони и да въвежда минимум параметри, за да стартира работа. Съветникът за Quick Start (Бърз старт) приема, че реакционният обем е 25 µl. За други реакционни обеми използвайте съветника за Advanced (Разширени) (вижте раздел 5.1.2).



Като първа стъпка изберете желания шаблон за цикъл, като кликнете два пъти върху шаблона от списъка в прозореца **New Run** (Нов цикъл).



**Perform Last Run** (Извършване на последния цикъл):

Опцията **Perform Last Run** (Извършване на последния цикъл) използва дефинициите за циклизиране, получаване на данни и извадка от последния отворен в софтуера цикъл.

**Three Step with Melt** (Три стъпки с топене):

Това е тристепенен профил за циклизиране с крива на топене с получаване на данни от зеления канал.

**Two Step** (Две стъпки):

Това е двустепенен профил за циклизиране с получаване на данни от зеления, жълтия, оранжевия и червения канал.

**Quenched FRET** (Угасен FRET):

Това е тристепенен профил за циклизиране с крива на топене. За разлика от Three Step with Melt (Три стъпки с топене), получаването е в края на стъпката на отгряване.

**Nucleic Acid Concentration Measurement** (Измерване на концентрацията на нуклеинова киселина):

Това е шаблон по подразбиране за измерване на концентрацията на нуклеинова киселина с помощта на интеркалиращи багрила.

**HRM** (Топене с висока разделителна способност):

Тази папка съдържа профили на топене с висока разделителна способност.

**Other Runs** (Други цикли):

Тази папка съдържа допълнителни профили.

Профилите за циклизиране и получаване на данни за всички шаблони могат да се променят с помощта на съветника.

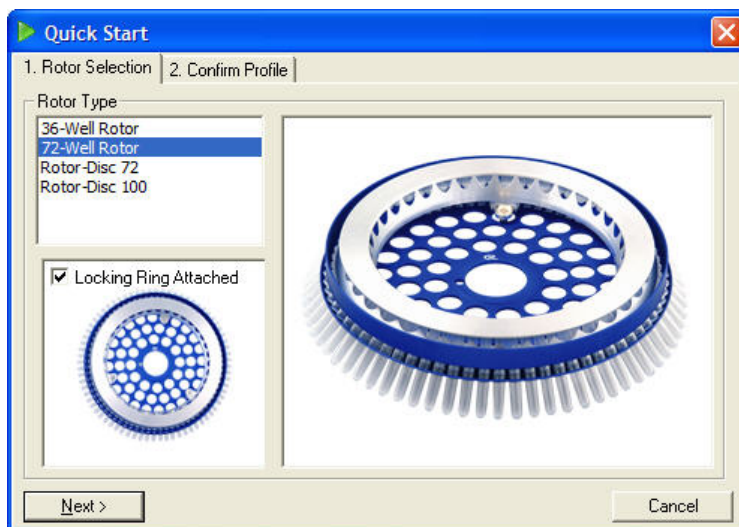
**Забележка:** Дефинирани от потребителя шаблони могат да се добавят към списъка с шаблони в съветника за Quick Start (Бърз старт) чрез копиране или запазване на файлове с разширение \*.ret в **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates**. След копиране на файл към този път, шаблонът ще се появи като икона в списъка. Ако искате персонализирани икони за вашите шаблони, създайте изображение с разширение \*.ico със същото име, като това на шаблона.

Към шаблоните, свързани с групата, могат да се създават подпапки. Това позволява организиране на шаблоните, което може да бъде удобно, например в случай че няколко потребителя използват един и същ апарат.

### Избор на ротор

В следващия прозорец изберете типа ротор от списъка.

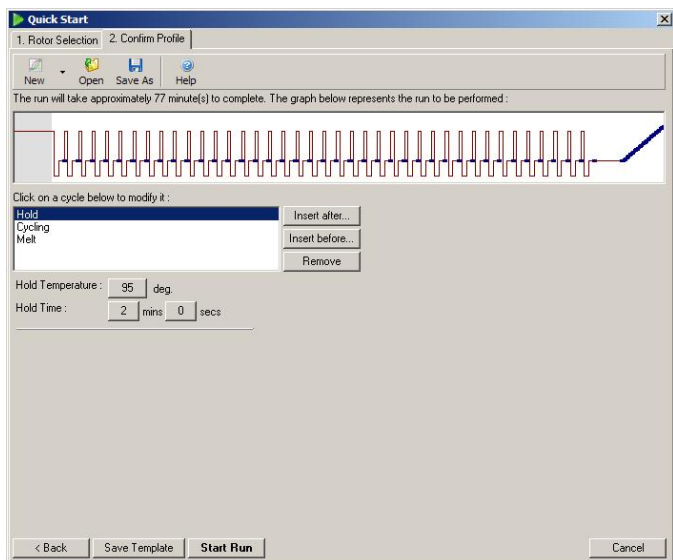
Поставете отметка в квадратчето **Locking Ring Attached** (Поставен фиксиращ пръстен) и след това кликнете върху **Next** (Напред).



### Потвърждаване на профила

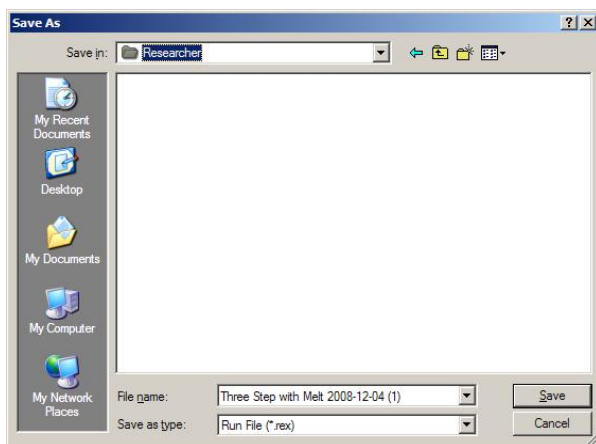
Импортират се условията на циклизиране и каналите за получаване на избрания шаблон. Те могат да бъдат променени с помощта на прозореца **Edit Profile** (Редактиране на профила) (вижте раздела „Редактиране на профила“).

За да изпълните цикъл, кликнете върху бутона **Start Run** (Стартиране на цикъл). Възможно е също така да запишете шаблона, преди да стартирате цикъла, като кликнете върху **Save Template** (Запазване като шаблон).



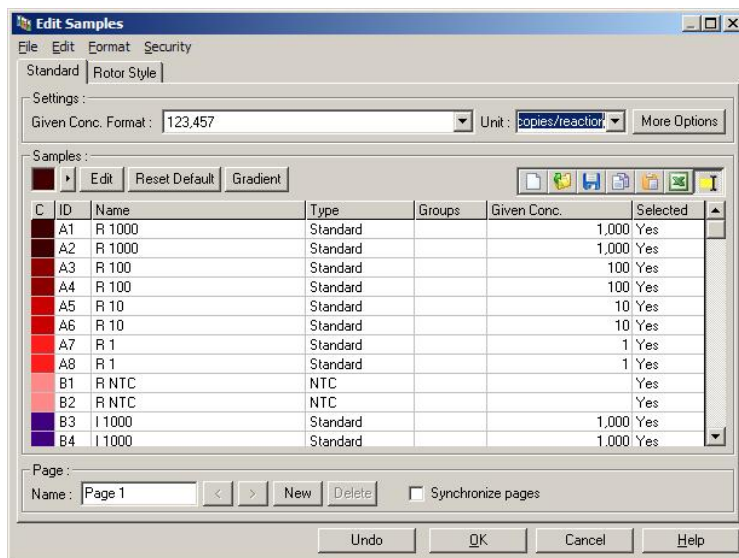
### Запазване на цикъл

След като кликнете върху бутона **Start Run** (Стартиране на цикъл), се появява прозорецът **Save As** (Запазване като). Цикълът може да бъде запазен на желаното от потребителя място. Присвоява се име на файла на цикъла, което се състои от името на използвания шаблон и датата на цикъла. Името на файла включва също така сериен номер (1, 2 и т.н.), за да се позволи автоматичното наименоуване на множество цикли, които използват един и същ шаблон в същия ден.



## Настройка за пробите

След като цикълът започне, прозорецът **Edit Samples** (Редактиране на проби) позволява да се дефинират и опишат пробите.

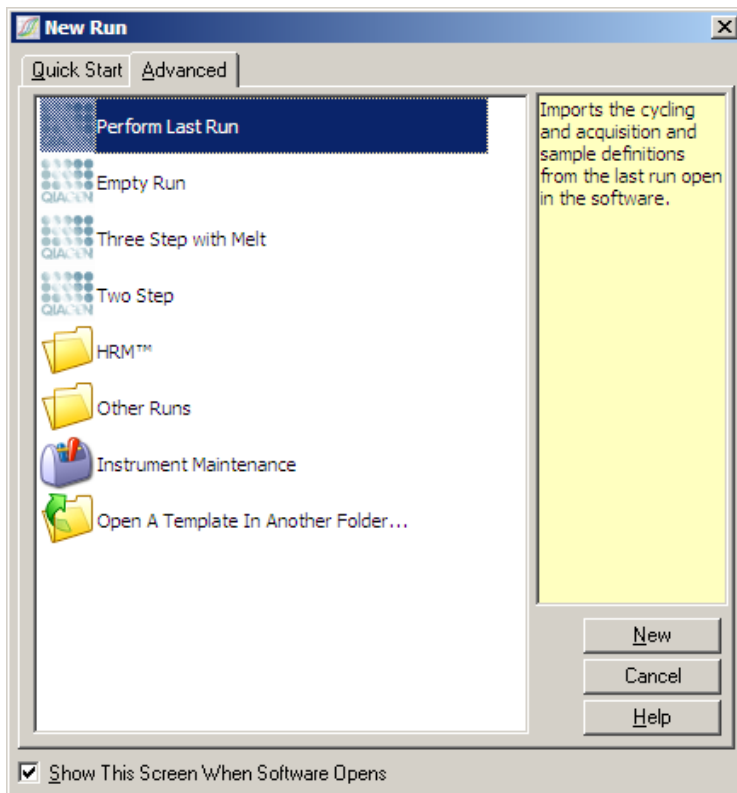


Прозорецът **Edit Samples** (Редактиране на проби) се появява след стартиране на цикъла, така че потребителят да може да използва това време за въвеждане на имената на пробите. Ако имената на пробите се въвеждат твърде бързо по време на цикъла (напр. с помощта на баркод скенер), това може да доведе до транспонирани букви в имената на пробите. Поради това се препоръчва да избягвате използването на баркод скенер, ако е приложимо, въведете имената на пробите, след като цикълът приключи. За информация относно настройката на дефинициите на проби в прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби) вижте раздел 6.8.4.

### 5.1.2 Съветник за Advanced (Разширени)

Съветникът за Advanced (Разширени) позволява опции, които не са налице в съветника за Quick Start (Бърз старт), като например конфигуриране на оптимизирането на усилването.

За да използвате съветника за Advanced (Разширени), изберете шаблон, като кликнете два пъти върху името на шаблона от списъка в раздела **Advanced** (Разширени) на прозореца **New Run** (Нов цикъл).



Опциите за шаблон, предоставени в този прозорец, са подобни на тези, предоставени при използване на съветника за Quick Start (Бърз старт) (раздел 5.1.1).

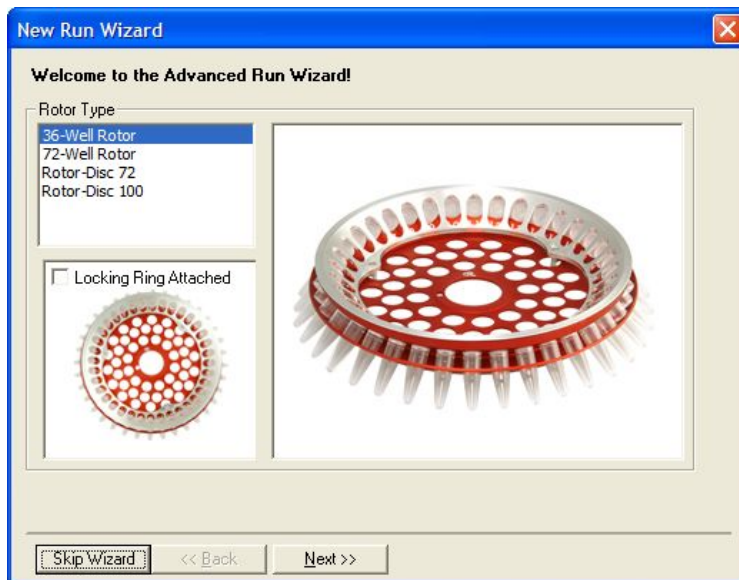
<b>Perform Last Run</b> (Извършване на последния цикъл):	Опцията <b>Perform Last Run</b> (Извършване на последния цикъл) импортира дефинициите за циклизиране, получаване на данни и извадка от последния отворен в софтуера цикъл.
<b>Empty Run</b> (Празен цикъл):	Това е празен цикъл, който позволява на потребителя да дефинира всички параметри на профила.
<b>Three Step with Melt</b> (Три стъпки с топене):	Това е двустепенен профил за циклизиране с получаване на данни само от зеления канал, за да се ускори цикъла.
<b>HRM</b> (Топене с висока разделителна способност):	Тази папка съдържа два профила на топене с висока разделителна способност.
<b>Other Runs</b> (Други цикли):	Тази папка съдържа допълнителни профили.
<b>Instrument Maintenance</b> (Поддръжка на апарата):	Съдържа шаблона, използван по време на оптична проверка на температурата (OTV). За повече информация вижте раздел 9. Този шаблон е заключен, за да се гарантира, че профилът винаги ще работи правилно.

**Забележка:** Дефинирани от потребителя шаблони могат да се добавят към списъка с шаблони чрез копиране или запазване на файлове с разширение \*.ret в **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\**. След копиране на файл към този път, шаблонът ще се появи като икона в списъка.

## Прозорец 1 – New Run Wizard (Съветник за нов цикъл)

В следващия прозорец изберете типа ротор от списъка.

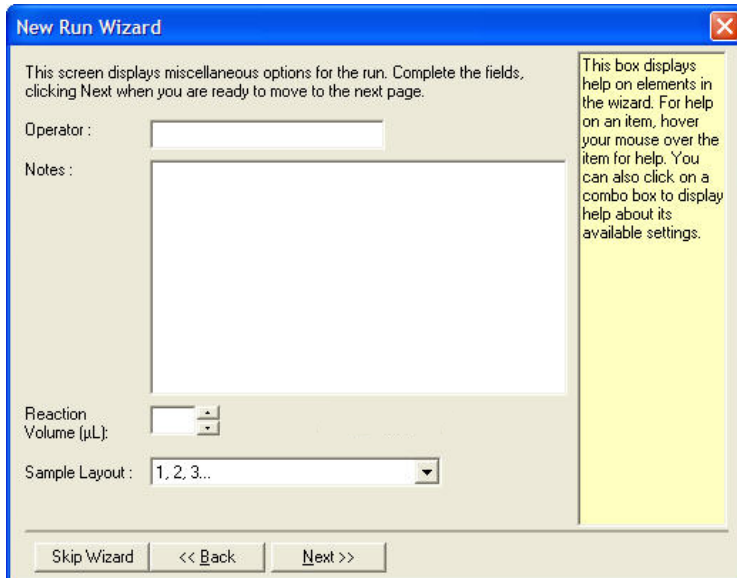
Поставете отметка в квадратчето **Locking Ring Attached** (Поставен фиксиращ пръстен) и кликнете върху **Next** (Напред), за да продължите.



## Прозорец 2 – New Run Wizard (Съветник за нов цикъл)

В следващия прозорец могат да бъдат въведени името на потребителя и бележки за цикъла. Реакционният обем също трябва да бъде въведен.

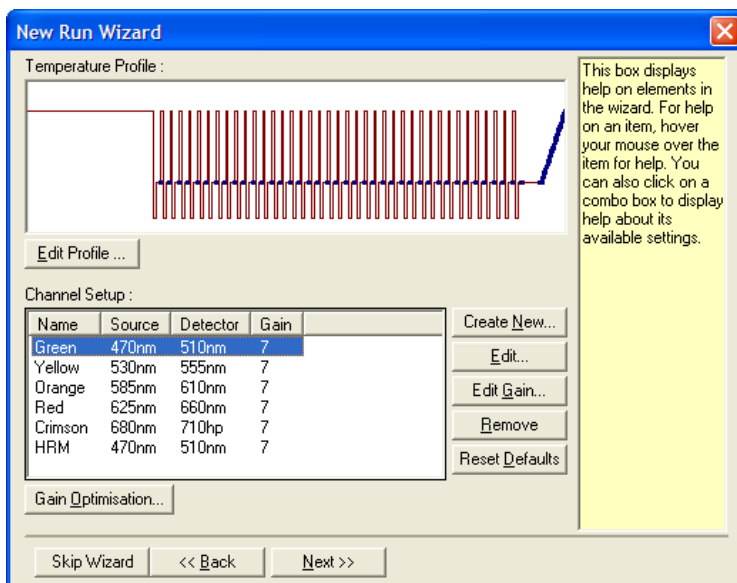
Ако в прозорец 1 е избрана опцията 72-Well Rotor, в падащото меню са налични три опции за **Sample Layout** (Конфигурация на пробата). „1, 2, 3...“ е опцията по подразбиране. Повечето потребители избират тази опция. Опцията „1A, 1B, 1C...“ трябва да бъде избрана, когато пробите са били заредени в съседни лентови епруветки от 0,1 ml с помощта на многоканална пипета с 8 канала. Конфигурацията „A1, A2, A3...“ може да бъде избрана, ако е подходящо.



### Прозорец 3 – New Run Wizard (Съветник за нов цикъл)

В този прозорец могат да бъдат променени опциите **Temperature Profile** (Температурен профил) и **Channel Setup** (Настройка на канала). Ако кликнете върху бутона **Edit Profile...** (Редактиране на профила...), се появява прозорецът **Edit Profile** (Редактиране на профила), позволяващ промяна на условията на циклизиране и избор на канали за получаване (раздел „Редактиране на профила“).

След като настроите профила, кликнете върху бутона **Gain Optimisation...** (Оптимизиране на усилването...), за да изведете прозореца **Gain Optimisation** (Оптимизиране на усилването) (вижте стр. 65).



## Редактиране на профила

Прозорецът **Edit Profile** (Редактиране на профила) позволява да се посочат условията на циклизиране и каналите за получаване. Показаният първоначален профил се основава на шаблона, избран при настройката на цикъла (вижте стр. 48). Профилът се визуализира графично. Списъкът на сегментите на профила се появява под графичния дисплей. Този списък може да включва Hold (Задържане) (стр. 56), Cycling (Циклизиране) (стр. 57), Melt (Топене) (стр. 57) или HRM (Топене с висока разделителна способност), ако апаратът има HRM канал (стр. 60).

Всеки етап от профила може да се редактира, като кликнете върху съответната област на графичния дисплей или върху името в списъка и след това промените настройките, които се появяват.

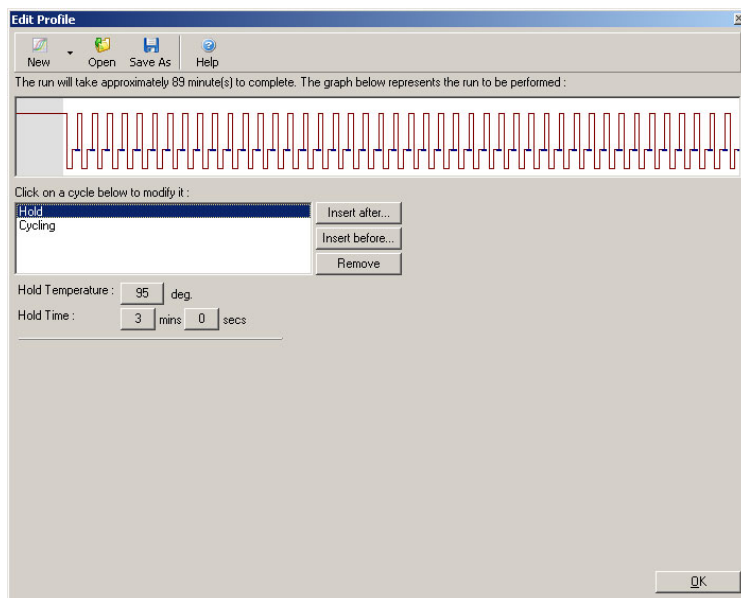
Insert after... (Вмъкване след...):                   Позволява добавяне на нов цикъл след избрания цикъл.

Insert before... (Вмъкване преди...):                Позволява добавяне на нов цикъл преди избрания цикъл.

Remove (Премахване):                               Премахва избрания цикъл от профила.

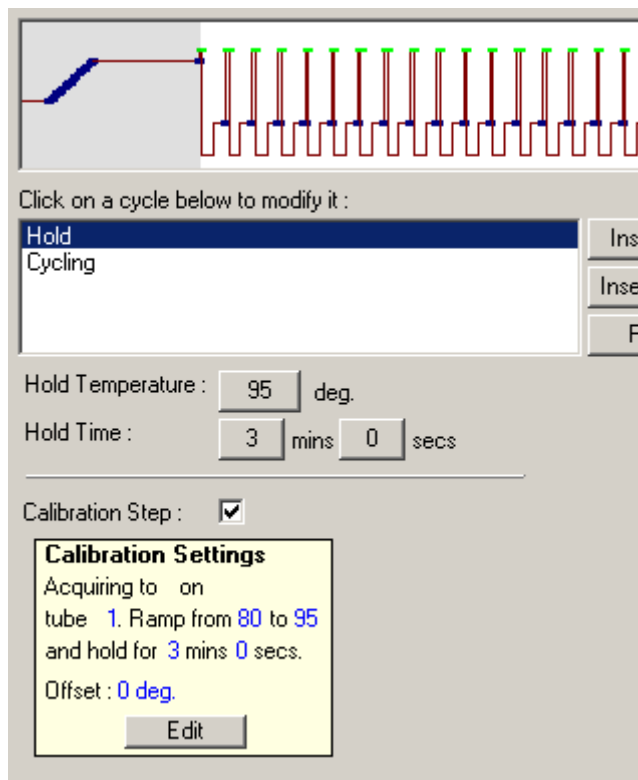
### Задържане

Командата Hold (Задържане) дава инструкции на Rotor-Gene Q MDx да остане на определената температура за определено време. За да промените температурата, кликнете върху бутона **Hold Temperature** (Температура на задържане) и въведете или използвайте плъзгача, за да изберете желаната температура. За да промените продължителността на задържането, кликнете върху бутоните **Hold Time** (Време на задържане), **mins** (минути) и **secs** (секунди).





Ако извършвате Optical Denature Cycling (Циклизиране чрез оптична денатурация), командата Hold (Задържане) може да се използва като стъпка за калибриране. В този случай се извършва калибриращо топене преди задържане. По подразбиране това е конфигурацията за първото задържане в даден цикъл, но може да бъде променено, ако е необходимо.



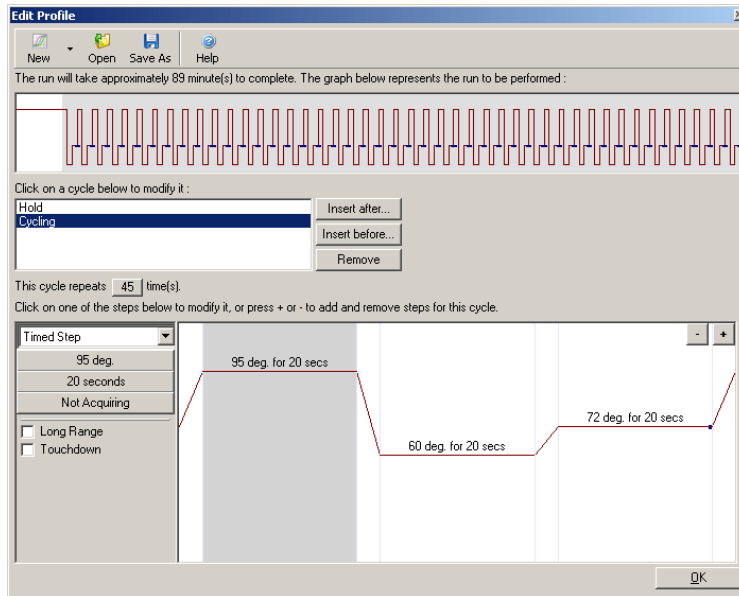
За повече информация относно циклизирането чрез оптична денатурация вижте стр. 61.

### Циклизиране

Циклизирането повтаря зададените от потребителя температурни и времеви стъпки определен брой пъти. Броят на повторенията се задава с помощта на бутона **This cycle repeats X time(s)** (Този цикъл се повтаря X пъти).

Даден цикъл се показва графично (както е показано на екранната снимка по-долу). Всяка стъпка от цикъла може да бъде променена. Температурата може да се промени чрез плъзгане на температурната линия в графиката нагоре или надолу. Продължителността на стъпката може да се промени чрез плъзгане на температурната граница в графиката наляво или надясно. Като алтернатива кликнете върху стъпката и използвайте бутоните за температура и време вляво от графиката.

Стъпките в цикъла могат да се добавят или премахват с помощта на бутоните „-“ и „+“ в горния десен ъгъл на графиката.



**Long Range** (Широк обхват): Поставянето на отметка в това квадратче увеличава времето за задържане на избраната стъпка с 1 сек. за всеки нов цикъл.

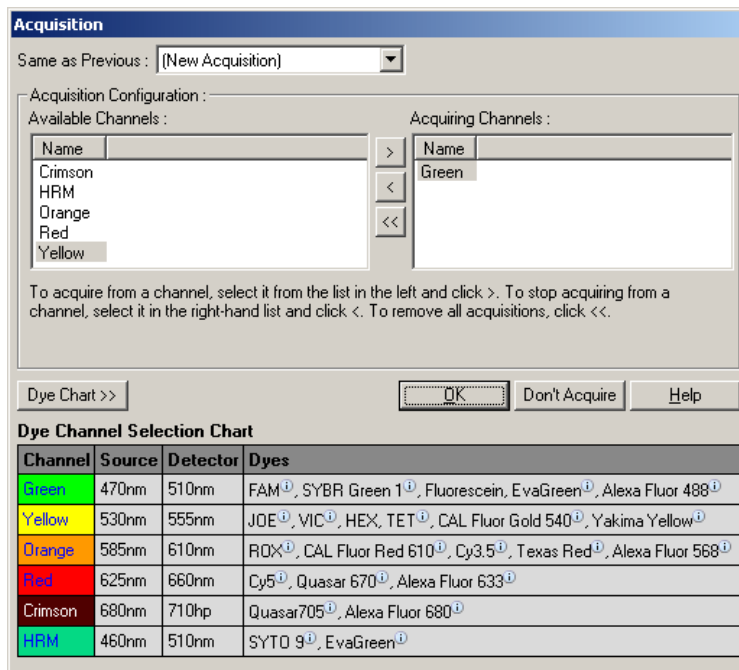
**Touchdown** (Тъчдаун): Поставянето на отметка в това квадратче намалява температурата с определен брой градуси за определен брой ранни цикли. След това се показва на дисплея.

## Получаване

Данните могат да бъдат получени по всеки канал при всяка стъпка на циклизиране. За да настроите даден канал за получаване на данни, кликнете върху бутона **Not Acquiring** (Без получаване) (ако даден канал вече е бил настроен за получаване на тази стъпка, тогава каналите за получаване ще са изброени тук).



След като кликнете върху бутона **Not Acquiring** (Без получаване), се появява прозорецът **Acquisition** (Получаване).



За да настроите даден канал за получаване, изберете канала и го преместете от списъка „Available Channels“ (Налични канали) в списъка „Acquiring Channels“ (Канали за получаване) с помощта на бутона . За да премахнете избран канал от списъка „Acquiring Channels“ (Канали за получаване), използвайте бутона . Бутонът премахва всички канали от списъка „Acquiring Channels“ (Канали за получаване). Кликването върху бутона **Don't Acquire** (Да не се получава) също премахва всички получавания от стъпката.

Ако в профила е включена повече от една циклична последователност, получените данни могат да бъдат добавени към данните, получени от по-ранното циклизиране. Използвайте падащото меню **Same as Previous** (Като предишните), за да изберете стъпката за циклизиране, към която трябва да се добавят данните.

Диаграмата Dye Channel Selection (Избор на багрила за канали) помага на потребителя да реши кой канал е подходящ за багрилото, което възнамерява да използва. Багрилата, показани в таблицата, са тези, които се използват обичайно и не показват границите на апарата.

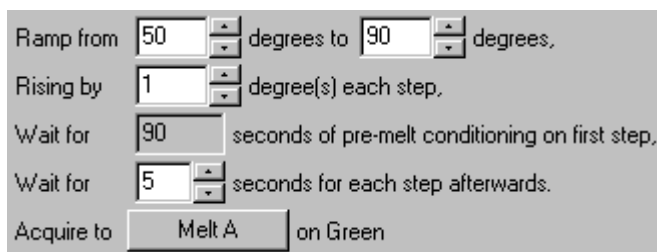
Опциите за получаване, описани по-горе, се отнасят и за стъпките „Melt“ (Топене), с изключение на това, че не е възможно да се добавят данни за получаване с помощта на менюто **Same as Previous** (Като предишните).

### Топене и хибридизация

Опцията Melt (Топене) представлява стъпката между 2 температури (от по-ниската към по-високата температура). Допустимият температурен диапазон е 35 – 99°C.

За да настроите опцията Melt (Топене), посочете началната температура, крайната температура, температурните повишения, продължителността на времето за задържане при първата температура на получаване преди започване на стъпката, времето за задържане на всяко увеличение и каналите за получаване.

Между двете температури ще се генерира стъпка. Ако началната температура е по-висока от крайната, името на стъпката ще се промени на **Hybridisation** (Хибридизация). Опцията **Acquiring To** (Получаване до), зададена на Melt A (Топене A) на екранната снимка по-долу, може да бъде променена, като кликнете върху бутона. Ще се появи прозорецът **Acquisition** (Получаване), където могат да бъдат избрани съответните канали.



The screenshot shows a configuration window for a 'Melt A' step. It contains the following settings:

- Ramp from: 50 degrees to 90 degrees.
- Rising by: 1 degree(s) each step.
- Wait for: 90 seconds of pre-melt conditioning on first step.
- Wait for: 5 seconds for each step afterwards.
- Acquire to: Melt A on Green

При извършване на стандартно топене, температурата се повишава със стъпки от по 1°C, като се изчаква 5 секунди преди всяко получаване. Rotor-Gene Q MDx може да бъде конфигуриран да извършва топене на стъпки от по 0,02°C. Минималното време на задържане между температурните стъпки варира в зависимост от броя на градусите между всяка стъпка.

### Топене с висока разделителна способност

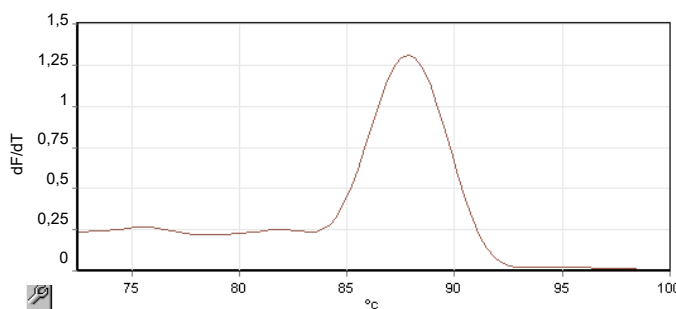
Топенето с висока разделителна способност (HRM) характеризира пробите от двуверижна ДНК въз основа на тяхното поведение на дисоциация (топене). Той е подобен на класическия анализ на кривата на топене, но предоставя много повече информация за по-широк спектър от приложения. Пробите могат да бъдат разграничени според последователността, дължината, съдържанието на GC (и Цитозин) или комплементарността на веригата, до промените на единични базови двойки.

HRM анализът може да се извърши само на апарати, които имат инсталиран хардуер и софтуер за HRM. Данните се получават с помощта на специализирани HRM източници и детектори. HRM анализът също включва опцията за извършване на оптимизиране на усилването точно преди началото на топенето. След извършване на HRM, данните могат да бъдат анализирани със софтуера за анализ на HRM (раздел 10).

### Циклизиране чрез оптична денатурация

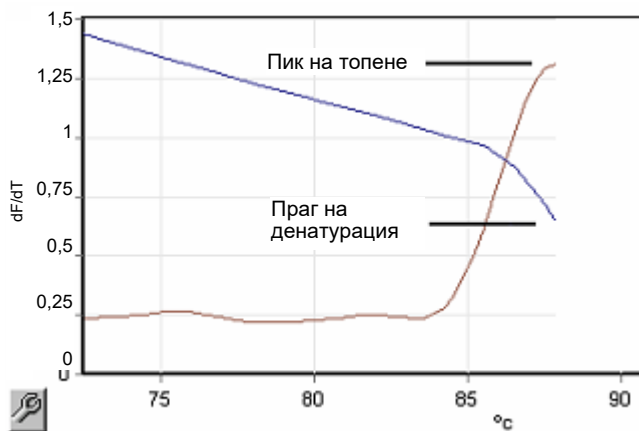
Циклизиране чрез оптична денатурация е техника на възбуждане, налична в Rotor-Gene Q MDx, която извършва анализ на топене в реално време, за да определи пика на топене на дадена референтна проба. Това показва денатурация на даден PCR продукт с по-висока прецизност, отколкото задаването на конкретна температура на денатурация за време на задържане. За да изпълните тази техника, просто поставете референтна епруветка с PCR продукт в позиция 1 на епруветките на ротора. Референтната епруветка трябва също да съдържа химично вещество за откриване, което позволява откриване на дисоциацията на веригата.

При нагряване до начална температура на денатурация се извършва топене в зеления канал от 80 до 95°C, по подразбиране. Параметрите на това първоначално топене могат да се регулират от потребителя. От тези данни се генерира крива на топене, която се анализира автоматично.



Пикът на топене се препраща обратно към необработените данни, за да се получи прагът на денатурация. След това при всяка стъпка на циклизиране чрез оптична денатурация, апаратът се нагрява възможно най-бързо и данните се получават непрекъснато. След като референтната епруветка достигне прага на денатурация на флуоресценцията, апаратът незабавно се охлажда и преминава към следващата програмирана стъпка в цикъла. По време на циклизирането не се изчислява пик. Вместо това нивото на флуоресценция се отнася към пика на топене и това обозначава прага на денатурация.

В следващата графика са насложени необработените показания на флуоресценция и първата производна. Това показва съответствието между прага на денатурация и пика на топене, получен по време на калибрирането.



За да извършите циклизиране чрез оптична денатурация, ще ви трябва:

- Предварително амплифициран PCR продукт за поставяне в позиция 1 на ротора. Тази проба трябва да съдържа същия PCR продукт като желаните проби и химично вещество за откриване за наблюдение на дисоциацията на PCR продукта.
- Оптичен профил на денатурация. Може да се създаде нов профил или да се редактира съществуващ такъв (вижте подробностите по-долу).

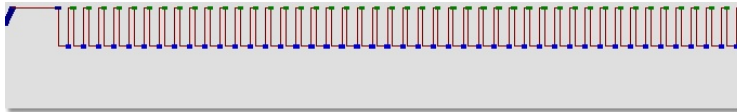
Цикълът на оптична денатурация изглежда почти идентично с другите цикли. Основните разлики са стъпката на топене, която се въвежда автоматично в началото на профила, и острия профил на стъпката на денатурация по време на циклизиране. Цикълът на оптична денатурация не изисква определени времена на задържане, тъй като дисоциацията на продукта се следи при всеки цикъл.

За да изпълните тази техника, е необходима следната информация относно цикъла:


- Началната температура на денатурация. Това е същата температура като стъпката на денатурация в стандартен профил за циклизиране.
- Позицията на епруветката на PCR пробата, която ще доведе до крива на топене на зеления канал.
- Трябва да бъде дефиниран профил за циклизиране чрез оптична денатурация.

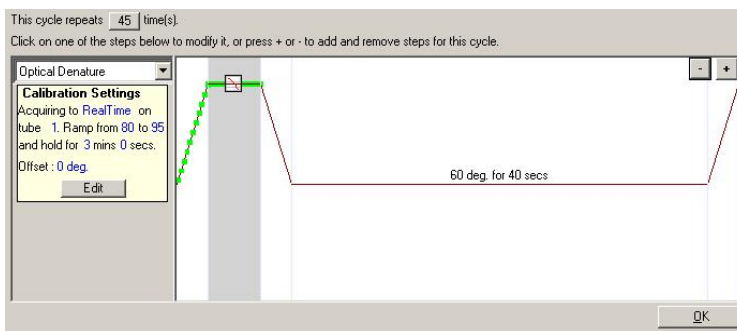
Създайте нов цикъл на оптична денатурация, както следва.

1. Отворете прозореца **Edit Profile** (Редактиране на профила). След това кликнете върху **New** (Нов). В прозореца, който се показва, кликнете върху бутона **Insert after** (Вмъкване след) и изберете **New Cycling** (Ново циклизиране) от менюто. Изберете една от температурните стъпки като кликнете върху графиката. В падащото меню променете от **Timed Step** (Времева стъпка) на **Optical Denature** (Оптична денатурация). Ще се появи профил по подразбиране, съдържащ стъпките Denature (Денатурация) и Optical Denature Cycle (Цикъл на оптична денатурация).

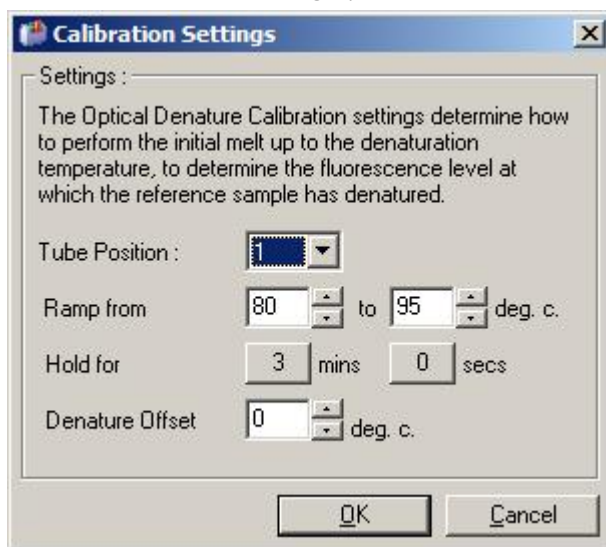


Областта с нарастване в началото на цикъла представлява процеса на калибриране. Зелените точки представляват получаванията, направени за всеки цикъл по време на нагряване. Сините точки представляват получаване в края на стъпката на отгряване при 60°C. Имайте предвид, че макар профилът да показва всяка стъпка със същата температура на денатурация, това може да не е така. Ако пробата изисква малко повече време, за да се стопи към края на цикъла, процесът на оптична денатурация изчаква топенето според флуоресцентните данни, а не според времето. Поради тази причина температурната следа може да варира за всеки цикъл.

- Кликнете върху първата половина на графиката със символа за оптична денатурация . Информацията **Calibration Settings** (Настройки за калибриране) се появява вляво на екрана.



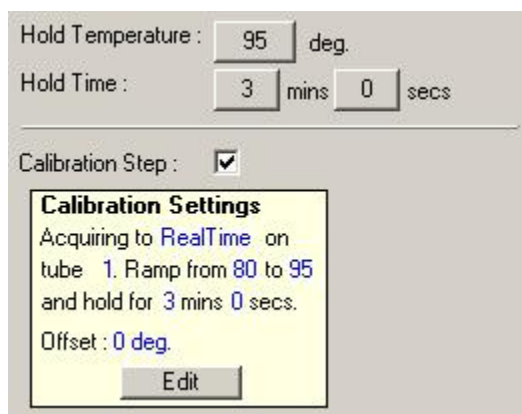
- Информацията „Calibration Settings“ (Настройки за калибриране) обикновено е правилна. За да я промените, ако е необходимо, кликнете върху **Edit** (Редактиране). Появява се прозорецът **Calibration Settings** (Настройки за калибриране).



4. Уверете се, че:

- Епруветката, посочена в **Tube Position** (Позиция на епруветката), съдържа PCR продукт, който ще покаже пика на топене на зеления канал.
- Крайната температурна стъпка няма да изгори пробата, но ще бъде достатъчно висока, за да ѝ позволи да се стопи.
- Времето на задържане е достатъчно за денатуриране на пробата.
- Денатурното отместване е настроено правилно. По подразбиране 0°C е подходящо за повечето стопилки. Стопилките с много остри преходи може да изискват отместване на денатурацията от -0,5°C до -2°C, както е определено от потребителя, за да се гарантира, че се открива преход на стопяване.

Можете също да дефинирате стъпка на денатуриране, като въведете нова стъпка за задържане. Кликнете върху **Insert before** (Вмъкване преди) и изберете **New Hold at Temperature** (Ново задържане при температура) от менюто. Ще се визуализират настройките за калибриране.

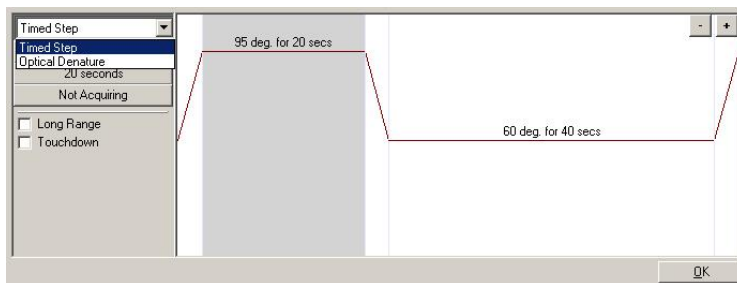



Настройките за калибриране са синхронизирани с настройките за денатуриране, така че промяната на времето за задържане в стъпката за денатуриране автоматично ще актуализира времето за задържане на калибрирането. Това е така, защото процесът на калибриране и денатурация са еквивалентни при циклизирането чрез оптична денатурация.

#### Промяна на съществуваща стъпка за използване на циклизиране чрез оптична денатурация

За да промените съществуваща стъпка на денатуриране в циклична последователност, изберете цикъла от списъка в прозореца **Edit Profile** (Редактиране на профила). След това изберете стъпката Denature (Денатуриране), като кликнете върху нея на дисплея.





Кликнете върху падащото меню и изберете **Optical Denature** (Оптична денатурация). Температурата и времето на задържане се премахват и се визуализира иконата **Optical Denature** (Оптична денатурация) .

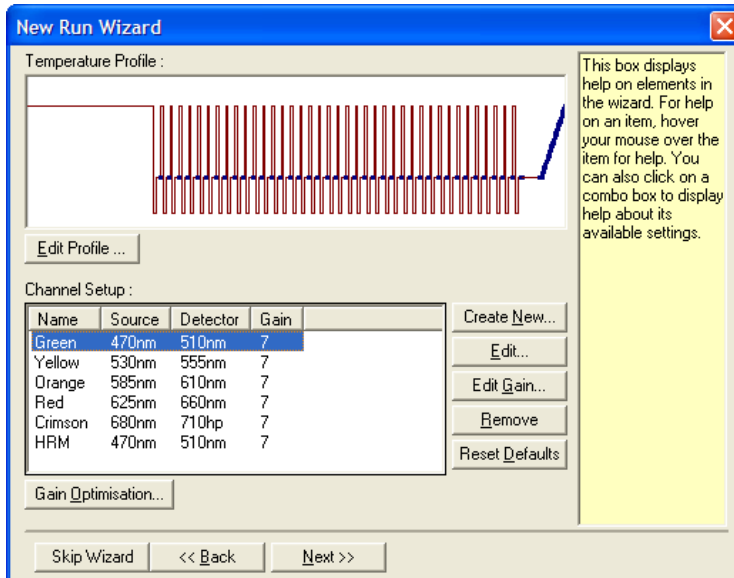
### Оптимизиране на усилването

Когато настройвате нов цикъл, е полезно да използвате функцията **Gain Optimisation** (Оптимизиране на усилването). Това ви позволява да оптимизирате усилването до настройка, която ще осигури желанния диапазон на начална флуоресценция при зададена температура (обикновено температурата, при която се извършва събирането на данни) във всеки от получените канали. Целта на оптимизацията на усилването е да гарантира, че всички данни се събират в динамичния диапазон на детектора. Ако усилването е твърде ниско, сигналът ще бъде загубен сред фоновия шум. Ако е твърде високо, целият сигнал ще бъде загубен извън мащаба (сатуриран).

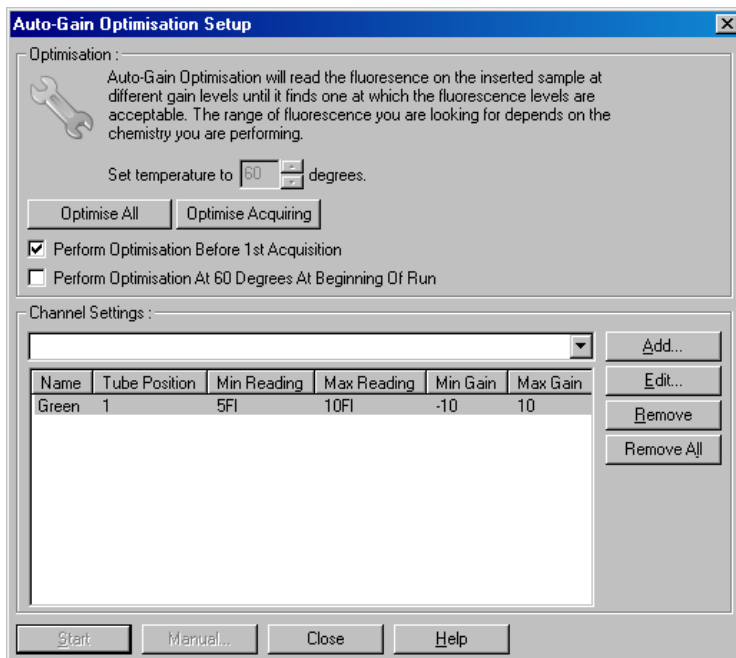
Диапазонът на усилване за всеки канал е от -10 до 10, където -10 е най-малко чувствителния, а 10 е най-чувствителния праг.

Когато извършвате дадени реакции за първи път, препоръчваме да подготвите тестова проба, съдържаща всички реакционни компоненти. Поставете тестовата проба в Rotor-Gene Q MDx и използвайте оптимизация на усилването, за да определите най-добрата настройка на усилването. Ако усилването, избрано от Gain Optimization, води до лош сигнал, тогава трябва да се увеличи стойността **Target Sample Range** (Целеви диапазон на пробата). Ако това доведе до наситен сигнал, тогава стойността **Target Sample Range** (Целеви диапазон на пробата) трябва да бъде намалена.

За да извършите оптимизация на усилването, кликнете върху бутона **Gain Optimisation...** (Оптимизиране на усилването...) в Прозорец 3 – New Run Wizard (Съветник за нов цикъл) (вижте „Прозорец 3 – New Run Wizard (Съветник за нов цикъл)“).



Визуализира се прозорецът **Auto-Gain Optimisation Setup** (Настройка на оптимизирането на автоматичното усилване). Този прозорец дава възможност за оптимизиране чрез автоматично регулиране на настройките на усилването, докато показанията за всички избрани канали попаднат в обхвата на или паднат под определен праг.



**Set temperature to** (Задаване на температура на):

Преди отчитането, Rotor-Gene Q MDx ще бъде нагрят или охладен, за да съответства на определената температура. По подразбиране тази надстройка е зададена като температура на получаване.

**Optimise All/Optimise Acquiring** (Оптимизиране на всички/Оптимизиране на получаването):

Опцията **Optimise All** (Оптимизиране на всички) ще се опита да оптимизира всички канали, известни на софтуера. **Optimise Acquiring** (Оптимизиране на получаването) ще оптимизира само каналите, които се използват в термичния профил, дефиниран по време на цикъла (циклизиране и топене).

**Perform Optimisation Before First Acquisition** (Извършване на оптимизация преди първото получаване):

Поставете отметка в това квадратче, за да извършите оптимизация на усилването при първия цикъл, в който се извършва получаването на данни. Тази опция се препоръчва за оптимизиране на автоматичното усилване.

**Perform Optimisation At [x] Degrees At Beginning of Run** (Извършване на оптимизация при [x] градуса в началото на цикъла):

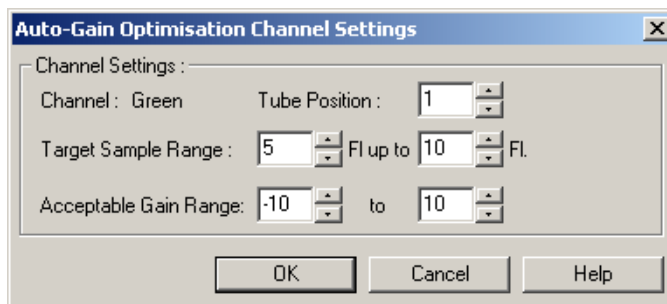
Поставете отметка в това квадратче, за да извършите оптимизация на усилването непосредствено преди стартиране на цикъла. Rotor-Gene Q MDx се нагрява до определената температура, извършва се оптимизация на усилването и след това започва циклизирането от първата стъпка, обикновено от стъпката Denature (Денатуриране). Тази опция може да бъде избрана, ако оптимизацията на усилването по време на цикъл би довела до твърде много време, прекарано в началната стъпка. Обикновено се предпочита опцията **Perform Optimisation Before 1st Acquisition** (Извършване на оптимизация преди 1-вото получаване), тъй като оптимизацията на усилването се извършва възможно най-близо до условията на цикъла.

**Channel Settings** (Настройки на канала):

Това падащо меню позволява добавянето на канали. Изберете желан канал и кликнете върху **Add** (Добавяне).

**Edit** (Редактиране):

Това отваря прозорец, в който може да се зададе **Target Sample Range** (Целеви диапазон на пробата). Опцията **Target Sample Range** (Целеви диапазон на пробата) представлява диапазонът на първоначалната флуоресценция, който трябва да бъде зададен за пробата в съответната епруветка. Автоматичната оптимизация на усилването чете всеки канал, използвайки настройки за усилване в диапазона, определен от **Acceptable Gain Range** (Допустим диапазон на усилване). Той избира първата настройка за усилване, която води до отчитане на флуоресценцията в рамките на **Target Sample Range** (Целеви диапазон на пробата). В показания пример, автоматичната оптимизация на усилването търси настройка на усилване между -10 и 10, която отчита между 5 и 10 FI в епруветка 1. Като цяло, за интеркалиращи багрила е подходящ **Target Sample Range** (Целеви диапазон на пробата) от 1 – 3 FI, докато диапазонът от 5 – 10 FI е по-подходящ за химичните вещества в сондата.



**Remove/Remove All** (Премахване/Премахване на всички):

Командата **Remove** (Премахване) премахва открития канал. Командата **Remove All** (Премахване на всички) премахва всички канали.

**Start** (Стартиране):

Командата **Start** (Стартиране) стартира оптимизация на усилването. Избира се усилване, което води до нива на флуоресцентен сигнал в рамките на определения диапазон. Ако флуоресценцията попадне извън определения диапазон, усилването се настройва така, че да даде възможно най-близкото съвпадение.

**Manual** (Ръчно):

Това отваря прозореца **Manual Gain Adjustment** (Ръчна настройка на усилването).

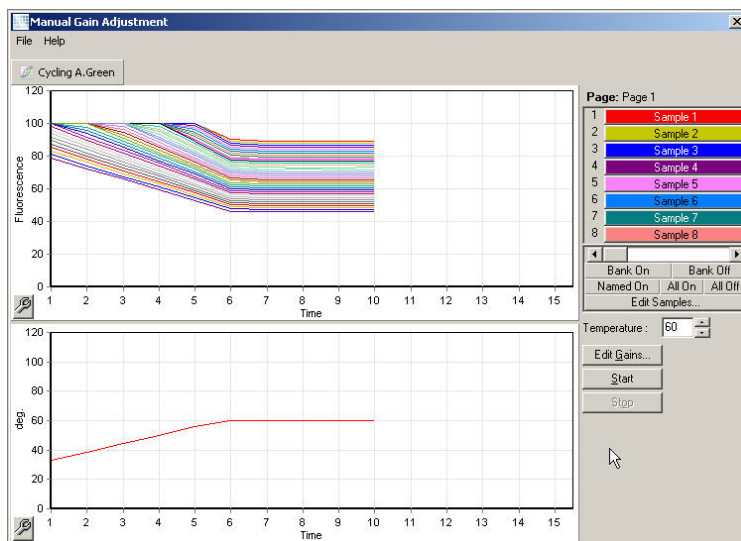
**Changing Gain During a Run** (Промяна на усилването по време на цикъл):

Ако усилването в началото на цикъла е било твърде високо или твърде ниско, то може да бъде променено в рамките на първите десет цикъла. При промяна на усилването се появява вертикална линия. Циклите преди промяната се изключват от анализа.

**Забележка:** Оптимизирането на усилването може да избере настройка, която не попада в определения диапазон. Това може да се дължи на промени във флуоресценцията след първата стъпка на задържане. Резултатът от оптимизация на усилването обаче дава добра индикация за нивото на флуоресценция, на което ще започне цикълът.

### Ръчна настройка на усилването

За да извършите „Manual Gain Adjustment“ (Ръчна настройка на усилването), кликнете върху **Manual...** (Ръчно...) в прозореца **Auto-Gain Optimisation Setup** (Настройка за оптимизиране на автоматичното усилване). Появява се прозорецът **Manual Gain Adjustment** (Ръчна настройка на усилването). Този прозорец визуализира показанията на флуоресценцията при всяка дадена температура в реално време. Използва се, когато фонът на пробата е неизвестен и следователно трябва да се определи усилването, за да се гарантира, че сигналът на пробата е достатъчен за откриване.



По подразбиране всички проби се показват на екрана. Пробите могат да бъдат премахнати от или добавени към екрана с помощта на превключвателя вдясно. Превключвателят се състои от цветни клетки, всяка от които съответства на дадена проба на екрана. Визуализират се пробите с ярко оцветена клетка, докато проби с избледняла клетка не се показват. Пробите могат да се включват или изключват чрез кликане върху клетката или чрез плъзгане на показалеца на мишката върху няколко клетки едновременно.

Препоръчваме да извършите ръчна настройка на усилването както следва:

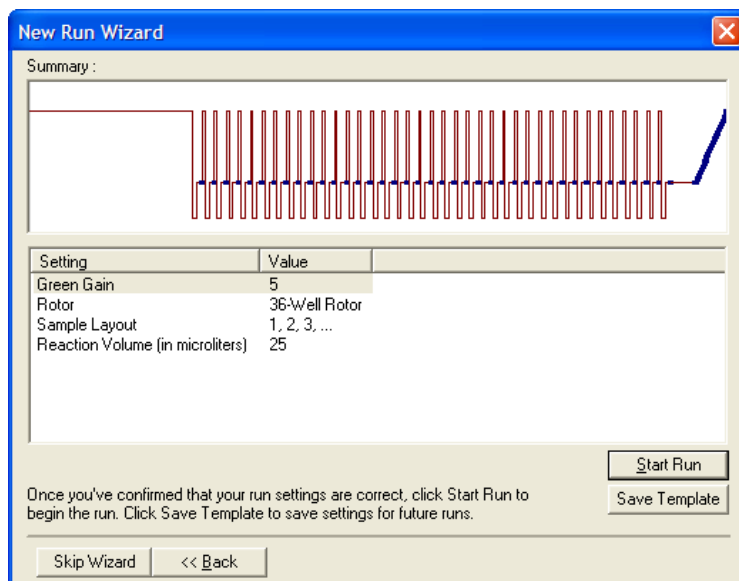
1. Настройте температурата в прозореца за ръчно регулиране на усилването до температурата на получаване, необходима за цикъла.

**Забележка:** Температурата няма да се регулира, докато Rotor-Gene Q MDx работи. Рестартирайте Rotor-Gene Q MDx, за да приложите промените, направени в температурата.

2. Кликнете върху **Start** (Стартиране). Цикълът започва. Температурата на Rotor-Gene Q MDx се регулира до температурата, посочена в прозореца. В графиките в прозореца започват да се визуализират данни.
3. Изчакайте температурата да се стабилизира.
4. Обърнете внимание на показанието на флуоресценцията на крайната точка (FI).
5. Ако показанието на FI не е на необходимото ниво, кликнете върху **Edit Gains...** (Редактиране на усилванията...) и редактирайте според нуждите. Този процес може да не е мигновен, тъй като на Rotor-Gene Q MDx му отнема приблизително 4 сек, за да получи всяка точка във всеки канал, и през това време потребителският интерфейс е деактивиран.
6. Повторете процеса, докато FI достигне желаното ниво.
7. Кликнете върху **Stop** (Спиране). Ако цикълът все още събира данни по време на кликането върху бутона **Stop** (Спиране), Rotor-Gene Q MDx първо завършва получаването и след това спира. Този процес може да отнеме до 5 сек. за всеки канал за получаване.

#### Прозорец 4 – New Run Wizard (Съветник за нов цикъл)

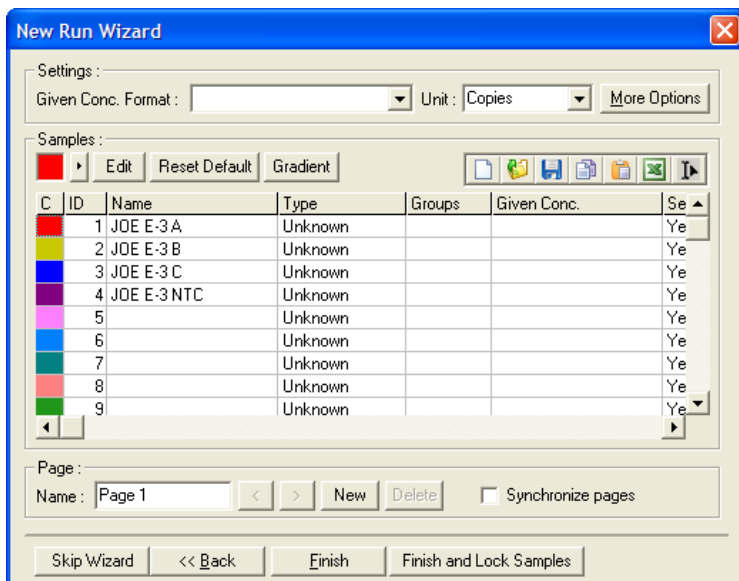
Този прозорец съдържа обобщаваща информацията за цикъла. Проверете параметрите и ако са правилни, кликнете върху **Start Run** (Стартиране на цикъла). Ще бъдете подканени да въведете име на файла. Можете също така да запазите настройките за цикъла като шаблон за бъдещи проби, като използвате бутона **Save Template** (Запазване като шаблон).



## Прозорец 5 – New Run Wizard (Съветник за нов цикъл)

Въведете типове проби и описания в този прозорец, докато трае цикълът. Функционалността на този прозорец е идентична с прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби) (стр. 134). Примерна информация може да бъде въведена и след приключване на цикъла.

Бутонът **Finish and Lock Samples** (Завършване и заключване на пробите) затваря екрана и предотвратява промяната на имената на пробите. За повече информация относно тази и други функции за сигурност вижте „Защита на достъпа до софтуера Rotor-Gene Q“ (стр. 141).



## 5.2 Използване на хардуера на Rotor-Gene Q MDx

### 5.2.1 Типове ротори


Първо изберете типа на ротора и епруветките, които да използвате. Налични са 4 типа ротори за различни типове епруветки.

**Забележка:** 36-Well Rotor и 72-Well Rotor се доставят с апарата. Роторите Rotor-Disc® са аксесоари.

**Важно:** Всички епруветки в даден цикъл трябва да са еднакви. Не смесвайте различни типове епруветки или такива от различни производители, тъй като това ще повлияе на оптичната еднородност. Препоръчваме използването на епруветки на QIAGEN, които са

специално проектирани за използване с Rotor-Gene Q MDx (вижте „Информация за поръчка“). Епруветките от алтернативни производители могат да предизвикат автофлуоресценция, което може да повлияе на надеждността на резултатите. Освен това епруветките от алтернативни производители могат да варират по дължина и дебелина, което води до несъответствие на оптичния път на Rotor-Gene Q MDx и реакцията в епруветката. QIAGEN си запазва правото да откаже техническа поддръжка за проблеми с апарата Rotor-Gene Q MDx, предизвикани от несертифицирани от QIAGEN пластмасови материали.

**Важно:** Всяко използване на несертифицирани от QIAGEN пластмасови материали с Rotor-Gene Q MDx може да анулира гаранцията на апарата ви.

<p><b>ВНИМАНИЕ</b></p> 	<p><b>Повреда на апарата</b></p> <p>Проверявайте визуално преди всеки цикъл и се уверете, че роторът не е повреден или деформиран.</p>
--	--

### 36-Well Rotor

36-Well Rotor е червен на цвят. 36-Well Rotor и 36-Well Rotor Locking Ring позволяват използването на епруветки от 0,2 ml. Епруветките не трябва да имат оптически прозрачни капачки, тъй като Rotor-Gene Q MDx чете флуоресценцията от дъното на епруветката, а не от горната ѝ част. Могат да се използват и епруветки с куполовидни капачки.



## 72-Well Rotor

72-Well Rotor е син на цвят. 72-Well Rotor и 72-Well Rotor Locking Ring се използват със Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, които могат да се използват за обеми до 20 µl. Капачките осигуряват безопасно и надеждно уплътнение.



## Rotor-Disc 72 Rotor

Rotor-Disc 72 Rotor е тъмносив на цвят. Rotor-Disc 72 Rotor и Rotor-Disc 72 Locking Ring позволяват използването на Rotor-Disc 72. Rotor-Disc 72 е диск със 72 ямки за употреба с висока производителност. За запечатване на Rotor-Disc 72 отгоре се нанася прозрачно полимерно фолио и се запечатва топлинно. Фолиото се нанася бързо и предпазва от замърсяване, като осигурява здраво, издръжливо и устойчиво уплътнение. За повече информация относно Rotor-Disc 72 вижте раздел 5.2.3.





## Rotor-Disc 100 Rotor

Rotor-Disc 100 Rotor е златен на цвят. Rotor-Disc 100 Locking Ring и Rotor-Disc 100 Locking Ring позволяват използването на Rotor-Disc 100. Rotor-Disc 100 е диск със 100 ямки за употреба с висока производителност. Rotor-Disc 100 е ротационен еквивалент на 96-ямковата плака, но с допълнителни 4 референтни ямки. Той позволява интеграция на Rotor-Gene Q MDx с 96-ямкови лабораторни работни потоци. Допълнителните ямки могат удобно да се използват за повече проби, допълнителни контролни реакции или реакции за ориентация, без да се заемат някои от стандартните 96-ямкови позиции. За безпроблемна съвместимост на работния поток с 96 ямки, ямките на Rotor-Disc 100 използват конвенциите за етикетиране на 96-ямкови плаки, т.е. от A1 – A12 до H1 – H12. Допълнителните 4 референтни ямки са обозначени с R1 – R4. За повече информация относно Rotor-Disc 100 вижте раздел 5.2.3.



### Спецификации на ротора

Тип на ротора	Капацитет на ямката (µl)	№ на проба	Тип епруветка	Препоръчителен реакционен обем (µl)
36-Well Rotor	200	36	PCR Tubes, 0.2 ml	20 – 50
72-Well Rotor	100	72	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml	20 – 50
Rotor-Disc 72 Rotor	100	72	Rotor-Disc, 72	20 – 25
Rotor-Disc 100 Rotor	30	100	Rotor Disc, 100	15 – 20

**Забележка:** 36-Well Rotor и 72-Well Rotor за Rotor-Gene Q MDx не трябва да се използват на апарати Rotor-Gene 3000 поради несъвместимост на оптичното подравняване. Моля, продължете да използвате по-старите 36-позиционни и 72-позиционни ротори с апарати Rotor-Gene 3000.

## 5.2.2 Настройка на реакцията

**Важно:** При всеки цикъл е необходимо да се използват подходящи контроли, за да се гарантират надеждни резултати.

Реакциите могат да бъдат приготвени с помощта на Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes (за PCR Tubes, 0.2 ml), Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (за Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, в комплект с едноканална пипета), Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel (Strip Tubes and Caps, 0.1 ml в комплект с многоканална пипета), Rotor-Disc 72 Loading Block (за Rotor-Disc 72) или Rotor-Disc 100 Loading Block (за Rotor-Disc 100). Всички блокове са изработени от алуминий и могат да бъдат предварително охладени.

Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (на снимката) съдържа 18 лентови епруветки, както и до осем епруветки от по 0,5 ml, които могат да се използват за приготвяне на основна смес, и до шестнадесет епруветки от по 0,2 ml, които могат да се използват за настройка на стандартни криви. Процедурата по-долу описва настройката на реакцията с помощта на 72-Well Rotor. Същата процедура може да се използва за настройка на реакцията, като се използва 36-Well Rotor и съответните аксесоари.

1. Поставете лентовите епруветки в блока за зареждане и аликутирайте реакционните компоненти.

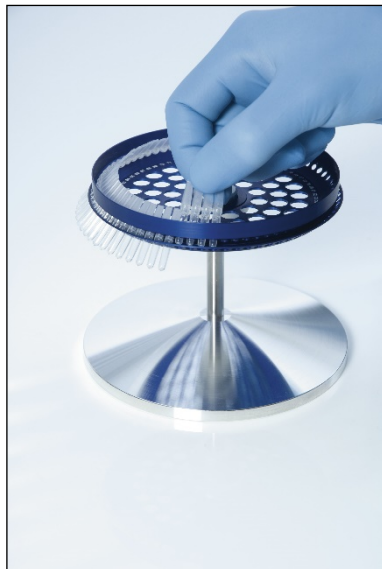


2. Поставете капачките стабилно върху лентовите епруветки и проверете визуално, за да потвърдите плътното им затваряне.



3. Поставете лентовите епруветки в 72-Well Rotor, като се уверите, че всяка от епруветките е разположена на правилното място и в правилната ориентация.

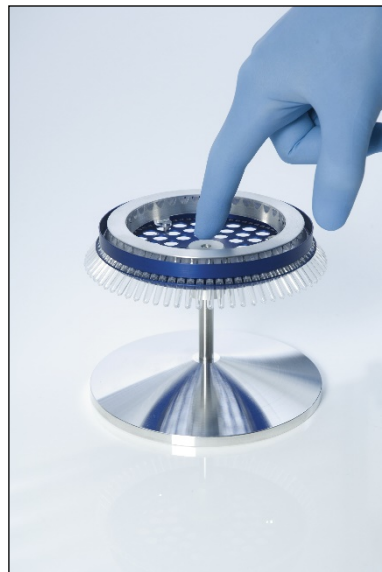
Пробите няма да бъдат оптимално подравнени върху системата за откриване, ако не са поставени правилно в ротора. Това може да доведе до намаляване на придобития флуоресцентен сигнал и чувствителността на откриване. С апарата е осигурен Rotor Holder, който позволява лесно зареждане на епруветките.



**Важно:** За постигане на максимална равномерност на температурата, всяка от позициите в ротора трябва да съдържа епруветка. Запълването на всички позиции в ротора осигурява равномерен въздушен поток към всяка епруветка. Поддържайте набор от празни епруветки с капачки, които могат да се използват за запълване на всякакви неизползвани позиции.

4. Поставете 72-Well Rotor Locking Ring в 72-Well Rotor, като натиснете 3-те фиксиращи щифта през външните отвори на ротора.

Фиксиращият пръстен гарантира, че капачките остават върху епруветките по време на работа.



5. Поставете модула в камерата на Rotor-Gene Q MDx, като го фиксирате на място с помощта на щифта за фиксиране, разположен върху роторната глава. За да го премахнете, просто натиснете надолу роторната глава, за да освободите модула и го издърпайте.



6. Затворете капака и настройте профила на цикъла с помощта на софтуера Rotor-Gene Q.

### 5.2.3 Настройка на ротационния диск

Rotor-Disc 72 или Rotor-Disc 100 се състоят съответно от 72 или 100 ямки в единичен диск, проектиран за висока производителност. С тях не се използват капачки. Вместо това върху горната част на ротационния диск се нанася Rotor-Disc Heat Sealing Film, което се запечатва топлинно с помощта на Rotor-Disc Heat Sealer. Фолиото предпазва от замърсяване, като осигурява здраво, издръжливо и устойчиво уплътнение. Термичното запечатване на ротационния диск се извършва, както е описано по-долу.

**Важно:** Моля, прочетете листовката на продукта, доставена с Rotor-Disc Heat Sealer, преди да започнете тази процедура.

1. Включете Rotor-Disc Heat Sealer, като използвате превключвателя, разположен отзад от лявата страна.

Светва червена лампичка „Power“ (Захранване). На Rotor-Disc Heat Sealer му отнема приблизително 10 минути, за да достигне работна температура, след което светва зелена лампичка „Ready“ (В готовност).

2. Изберете постоянно или подвижно уплътнение.

**Забележка:** След като Rotor-Disc Heat Sealer е готов, е безопасно да го оставите да работи постоянно.

3. Поставете ротационния диск в блока за зареждане на ротационния диск, с помощта на локатора на позиция едно на ротационния диск и водещите отвори на тръбата на блока за зареждане на ротационния диск.

4. Настройте реакциите в ротационния диск чрез ръчно пипетиране или с помощта на автоматизирана система за обработка на течности.



5. Отстранете централната част от един лист Rotor-Disc Heat Sealing Film, като леко сгънете фолиото наполовина, прищипете централната част и внимателно го разкъсате.

6. Поставете фолиото върху роторния диск в правилната ориентация, както е показано на етикета „SIDE UP“ (С тази страна нагоре). Уверете се, че етикетът „SIDE UP“ (С тази страна нагоре) е разположен в долната част на блока за зареждане на ротационния диск.

Централният отвор във фолиото трябва да се плъзга лесно върху цилиндъра на блока за зареждане на ротационния диск и върху горната част на ротационния диск.



7. Плъзнете модула в Rotor-Disc Heat Sealer, като използвате направляващите релси от страни на блока за зареждане на ротационния диск. Уверете се, че блокът за зареждане на ротационния диск е влязъл напълно.



8. За да активирате запечатващия механизъм, първо натиснете надолу синята анодизирана лента в горната част на термоуплътнителя, след това натиснете обратно черния фиксатор.

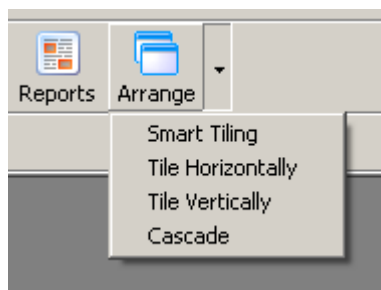


9. Когато запечатващият механизъм се спусне, светва оранжева лампичка „Sealing“ (Запечатване). Ако блокът за зареждане на ротационния диск не е в правилната позиция, прозвучава предупредителен звуков сигнал.
10. Когато запечатването приключи, се чува непрекъснат звуков сигнал и оранжевата лампичка „Sealing“ (Запечатване) започва да мига. Натиснете надолу синята анодизирана лента, за да повдигнете и освободите запечатващия механизъм обратно в първоначалното му положение.  
**Важно:** Не продължавайте запечатването по-дълго от указаното от звуковия сигнал, защото роторният дискът може да се деформира.  
**Забележка:** Мигащата оранжева лампичка „Sealing“ (Запечатване) ще светне постоянно и непрекъснатият звуковия сигнал ще се промени в прекъснат звук, за да ви предупреди, в случай че не успеете да освободите заключващия механизъм.
11. Плъзнете блока за зареждане на ротационния диск от Rotor-Disc Heat Sealer. Оставете фолиото да се охлади за около 10 сек. Отстранете излишното запечатващо фолио, като го натиснете надолу, за да се отдели. Не дърпайте излишното фолио нагоре.
12. Извадете ротационния диск от блока за зареждане на ротационния диск.
13. Заредете ротационния диск в ротора, като използвате локатора на позиция едно като ориентир за правилната ориентация.

## 6 Потребителски интерфейс за анализ

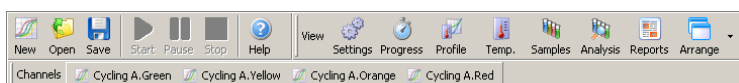
### 6.1 Работно пространство

Работното пространство е фонът на основния прозорец. В тази област могат да се отварят графики с необработени данни и резултати от анализа. Ако няколко прозореца се отварят едновременно, те могат да бъдат организирани, като кликнете върху бутона **Arrange** (Подреждане) в лентата с инструменти. Налице са няколко опции за подреждане на прозорците, които могат да бъдат избрани, като кликнете върху стрелката надолу до бутона **Arrange** (Подреждане).



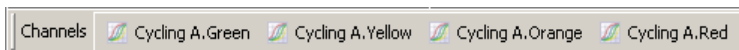
### 6.2 Лента с инструменти

Тези бутони са преки пътища към често използвани операции. Тези операции могат да бъдат достъпни и от падащите менюта.



### 6.3 Преглед на каналите с необработени данни

Кликнете върху тези бутони, за да видите необработените (неанализирани) данни от определени канали в цикъла.

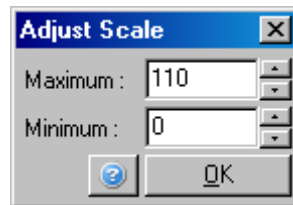


Когато преглеждате тези данни, са налични редица опции за промяна на визуализацията на данните. Необработените данни също могат да бъдат трансформирани, за да се улеснят различни видове анализи.



**Adjust Scale** (Регулиране на мащаба):

За да изберете **Adjust Scale** (Регулиране на мащаба), кликнете с десния бутон на мишката върху съответния прозорец. **Adjust Scale** (Регулиране на мащаба) извежда прозорец, в който може да се посочи мащаба.



**Autoscale** (Автоматично мащабиране):

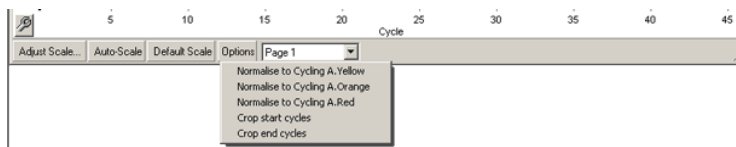
**Autoscale** (Автоматично мащабиране) се опитва да напасне мащабирането към максималните и минималните показания на данните.

**Default Scale** (Мащаб по подразбиране):

**Default Scale** (Мащаб по подразбиране) нулира мащаба до визуализиране на от 0 до 100 флуоресцентни единици.

Икона на винтов/гаечен ключ:

Повече информация ще намерите в раздел 7.5.



**Options** (Опции):

Визуализира падащото меню, показано по-горе, което предоставя опции за промяна на необработените данни.

**Normalise to...**  
(Нормализиране до...):

Позволява нормализиране на данните от усилването към данните от пасивно референтно багрило, като ROX, получени в друг канал.

**Crop start cycles**  
(Съкращаване на стартирането на цикли):

Създава нов набор от данни за канала, в който някои стартови цикли са премахнати. Опцията е полезна, ако се наблюдават големи скокове в ранните цикли, които могат да възникнат при използване на определени химичните вещества.

**Crop end cycles** (Съкращаване на крайни цикли):

Създава нов набор от данни за канала, в който някои крайни цикли са премахнати.

**Page 1** (Страница 1):

Визуализира страницата, която в момента е избрана за показване на графики с необработени данни. Прозорецът **Edit Sample** (Редактиране на проби) позволява създаването на множество дефиниции на проби. Например данните могат да се разглеждат с различна дебелина на линията, дефиниции на проби и други опции за визуализация. Опцията е особено полезна, ако относителното количествено определяне се извършва в един канал, тъй като потребителят може лесно да превключи изгледа между желаните ген и конститутивните проби, като дефинира две страници на проби.

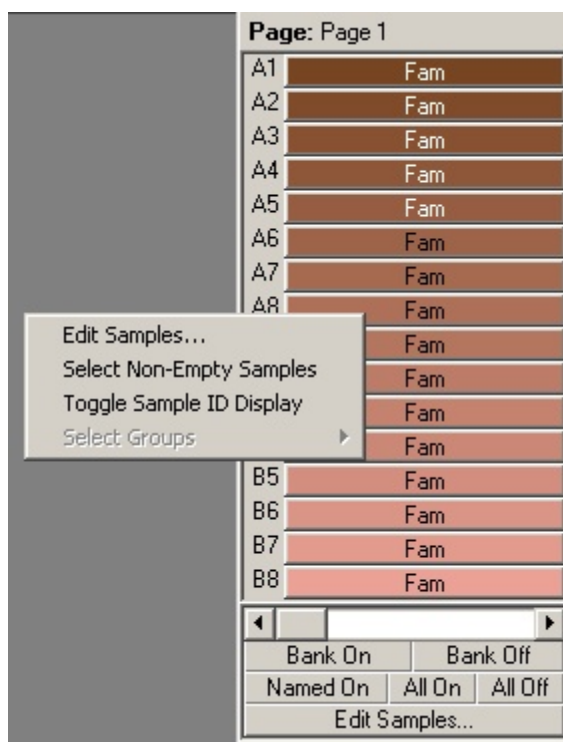
## 6.4 Превключване на проби

В дясната страна на основния прозорец има превключвател, който включва примерна легенда. Той се състои от цветни клетки, всяка от които съответства на дадена проба на екрана. Превключвателят се използва за контролиране на това кои проби могат да се видят на екрана. Визуализират се пробите с ярко оцветена клетка, докато проби с избледняла клетка не се показват. Пробите могат да се включват или изключват чрез кликане върху клетката или чрез плъзгане на показалеца на мишката върху няколко клетки едновременно. Бутоните **Bank On** (Включване на банка) и **Bank Off** (Изключване на банка) скриват или визуализират съответно всички проби, видими в момента в списъка. Лентата за превъртане може да се използва за показване на следващата група от проби.

**Забележка:** Броят на показаните проби е динамичен и зависи от наличното пространство в прозореца.

Кликването върху **Named On** (Наименувани) показва само онези проби, на които е дадено име. Това е бърз начин да покажете само необходимите проби. Кликването върху **All On** (Включване на всички) или **All Off** (Изключване на всички) показва всички или нито една от пробите в ротора, съответно. Натискането на бутона **Edit Samples...** (Редактиране на проби...) отваря прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби), където могат да се редактират имената, типовете и стандартните концентрации на пробите (вижте раздел 6.8.4).

Превключвателят е показан по-долу. Показаните допълнителни опции се появяват след кликане с десния бутон на мишката върху превключвателя.



**Page** (Страница):

Този етикет в горната част на превключвателя показва примерната страница, която се показва. Страниците позволяват разнообразни независими анализи от един набор от данни за канала. Например, можете да стартирате две стандартни криви в зеления канал и да генерирате независими отчети. Повече информация за настройката на страници на проби е налична в раздел 6.8.4.

**Toggle Sample ID Display**  
(Превключване на екрана на идентификатора на пробата):

Ако се използва 72-Well Rotor, пробите се показват във формат от A1 до A8, от B1 до B8 и т.н. Опцията **Toggle Sample ID Display** (Превключване на екрана на идентификатора на пробата) позволява на потребителя да превключи към даден числов ред на пробата (от 1 до 72).

**Select Non-Empty Samples**  
(Избор на непразни проби):

Тази опция премахва избора на всички проби, чиято опция **Type** (Тип) е зададена на **None** (Няма) в прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби). Това гарантира, че се показват само проби, подходящи за анализа.

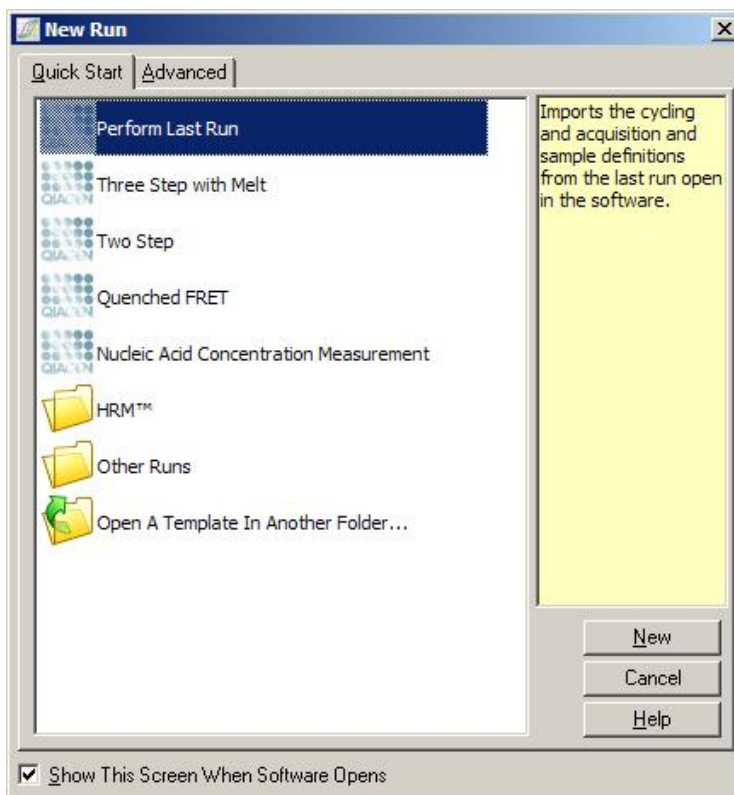
**Select Groups** (Избор на групи):

Ако сте дефинирали групи, тази функция ще превключва (включва/изключва) визуализацията на пробите в групите. Групите са произволни колекции от проби, които позволяват разширено отчитане на статистически резултати. Например, могат да се дефинират групи от обработени и необработени проби от пациенти. Групите могат да бъдат настроени в прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби).

## 6.5 Меню „Файл“

### 6.5.1 Нов

След като изберете **File** (Файл) и след това **New** (Нов), се появява прозорецът **New Run** (Нов цикъл). Този прозорец предоставя често използвани шаблони, организирани в разделите **Quick Start** (Бърз старт) и **Advanced** (Разширени). След като шаблонът е избран, съветникът ви води през настройката за стартиране и позволява промяна на настройките и профилите.



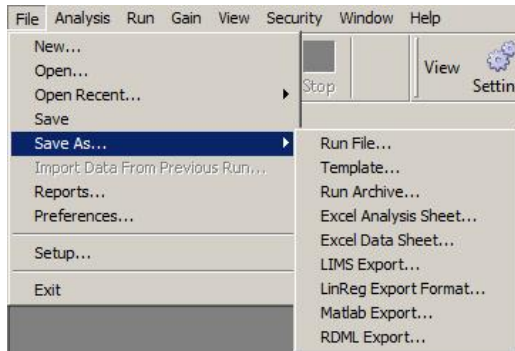
За информация относно предоставените шаблони вижте раздели 5.1.1 и 5.1.2.

### Нов цикъл

<b>New</b> (Нов):	Стартира настройката на цикъла с помощта на избрания шаблон.
<b>Cancel</b> (Отмяна):	Командата затваря този прозорец.
<b>Help</b> (Помощ):	Командата отваря функцията за онлайн помощ.
<b>Show This Screen When Software Opens</b> (Показване на този екран след отваряне на софтуера):	Ако в квадратчето е поставена отметка, прозорецът <b>New Run</b> (Нов цикъл) се визуализира при стартиране на софтуера.

## 6.5.2 Отваряне и запазване

- Open...** (Отваряне...): Командата отваря предварително запазен в Rotor-Gene Q run файл (\*.rex) или run архив (\*.rea).
- Open Recent...** (Отваряне на скорошни...): Визуализира последните 4 файла, които са били отворени или запазени.
- Save** (Запазване): Запазва промените, направени в даден run файл.



- Save As...** (Запазване като...): Използвайте тази функция, за да запазите run файла или данните в различни формати. Опциите са изброени по-долу.
- Run File...** (Run файл...): Запазва копие от файла. Потребителят може да промени името и мястото за запис. Това е форматът по подразбиране.
- Template...** (Шаблон...): Запазва настройките на профила и свързаните настройки, но не и данните за цикъла. Шаблонът може да се използва за извършване на бъдещи цикли.
- Run Archive...** (Архив от цикъла...): Записва данните в по-компактен файлов формат. Запазва файловете в този формат, преди да бъдат изпратени по имейл. Това намалява времето, необходимо за изпращане на файла и гарантира, че файловете не са повредени от имейл клиенти.
- LIMS Export** (Експорт към LIMS): Запазва анализа в съвместими с LIMS формати според изискванията на потребителя. За повече информация, моля, свържете се с отдела за техническо обслужване на QIAGEN.
- Excel Data Sheet...** (Таблица на Excel с данни...): Експортира всички канали с необработени данни в таблица на Excel®. Експортират се само избраните проби.
- Excel Анализ Sheet...** (Таблица на Excel с анализ...): Експортира целия анализ от текущия цикъл в една таблица на Excel.
- LinReg Export Format...** (Експортиране във формат за LinReg...): Експортира всички необработени данни за каналите във формат, който може да се чете от LinReg (инструмент за анализ на ефективността). Вижте „Експортиране към LinReg“ по-долу за повече информация.
- Matlab Export...** (Експортиране към Matlab...): Експортира данните във формат, който може да бъде прочетен от научния пакет Matlab (или Octave – неговият еквивалент с отворен код). Функцията може да бъде полезна при методически изследвания.
- RDML Export** (Експорт към LIMS): Позволява експортиране на файл, съвместим с RDML v1.1. Създаденият RDML файл за експортиране е ZIP компресиран файл в XML формат, с разширение на файла \*.rdml и е съвместим с документната схема RDML ([https://rdml.org/rdml\\_v\\_1\\_1.html](https://rdml.org/rdml_v_1_1.html)), предоставен на уебсайта: [https://rdml.org/rdml\\_v\\_1\\_1.html](https://rdml.org/rdml_v_1_1.html).

## Експортиране към LinReg

LinReg е инструмент, разработен от C. Ramakers и колеги.\* LinReg е наличен от: <https://medischebiologie.nl/files/>.

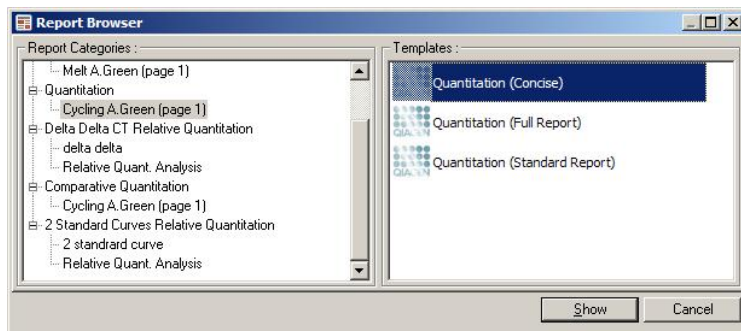
Софтуерът Rotor-Gene Q позволява на потребителя да експортира необработените данни във формат, който може да бъде импортиран от инструмента за анализ LinReg.

1. Отворете run файла на Rotor-Gene Q, който съдържа необработените данни.
2. Експортира данните във формат, който може да се чете от LinReg, като изберете **Save As...** (Запазване като...) и след това **LinReg Export Format...** (Експортиране във формат за LinReg...).
3. Microsoft Excel автоматично показва експортираните необработени данни.
4. Стартирайте инструмента LinReg.

Трябва да изберете обхвата от клетки, където са разположени необработените данни. Инструментът анализира по един канал с необработени данни наведнъж, поради което трябва да бъде избран уместен участък от таблицата в Excel.

### 6.5.3 Отчети

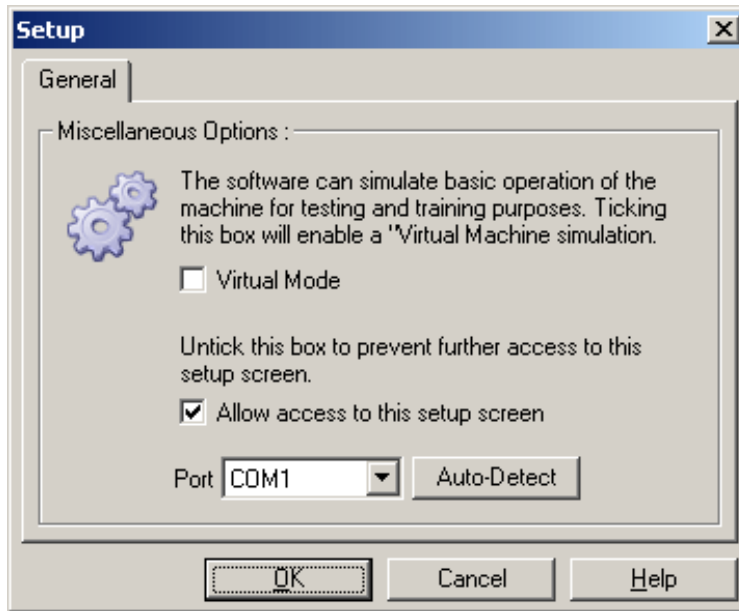
След като изберете **Reports** (Отчети), се появява прозорецът **Report Browser** (Браузър за отчети). Ако данните вече са анализирани, отчетът за анализа може да бъде показан в прозореца **Report Browser** (Браузър за отчети). Възможни са няколко типа отчети с вариращо ниво на детайли.



\* Ruijter, J.M., Ramakers, C., Hoogaars, W.M., Karlen, Y., Bakker, O., van den Hoff, M.J., and Moorman, A.F. (2009) Amplification efficiency: linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Res.* **37**, e45.

## 6.5.4 Настройки

Първоначалното настройване на Rotor-Gene Q MDx става при инсталирането. Въпреки това тази опция позволява промени в настройките за свързването на Rotor-Gene Q MDx след инсталацията, при необходимост.



**Virtual Mode** (Виртуален режим):

Изберете тази опция при използване на софтуера без свързан Rotor-Gene Q MDx. Софтуерът запазва функциите си. Това е удобно за демонстрации, анализ на данните и настройване на шаблоните.

**Allow access to this setup screen** (Разрешаване на достъп до този екран за настройка):

Ако тази опция не е маркирана по време на настройването, този прозорец повече няма да е достъпен. Тази мярка предпазва от неволна промяна на настройките. За да възстановите достъпа, се свържете с Вашия дистрибутор.

**Port** (Порт):

Изберете правилния комуникационен порт, за да позволите комуникацията между компютъра и Rotor-Gene Q MDx.

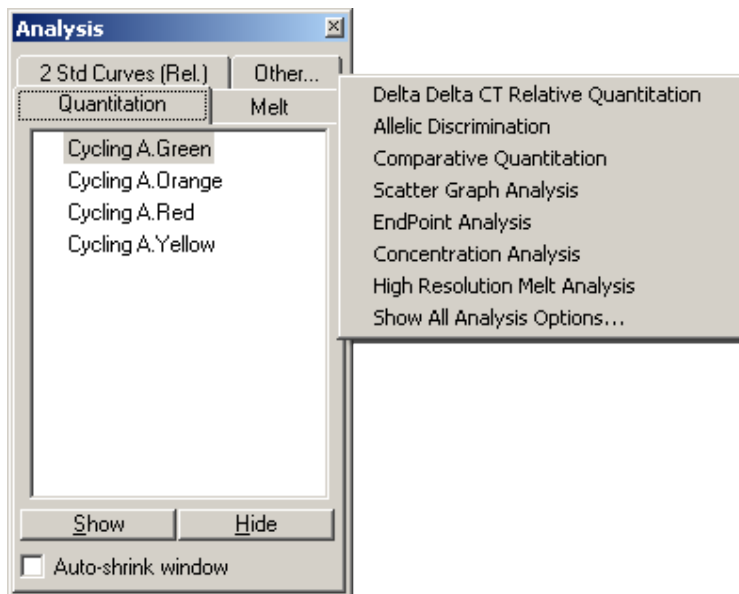
**Auto-Detect** (Автоматично откриване):

Ако не сте сигурни кой порт да изберете, натиснете **Auto-Detect** (Автоматично откриване), за да търсите за налични портове.

## 6.6 Меню „Анализ“

### 6.6.1 Анализ

След като кликнете **Analysis** (Анализ) се появява прозорецът **Analysis** (Анализ). Този прозорец позволява създаването на нови и показването на съществуващи анализи. Методът се избира от разделите. Визуализира се списък с каналите, които могат да се анализират с избрания метод. Множество проби, изследвани на един канал, могат да бъдат анализирани по отделно, ако са настроени като отделни страници в прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби). Страниците, които вече са анализирани, имат зелена отметка до тях. Това означава, че настройките за праг и нормализиране са запазени за този анализ. За да прегледате или анализирате даден канал, кликнете два пъти върху него. Излиза прозорецът за специфични анализи.

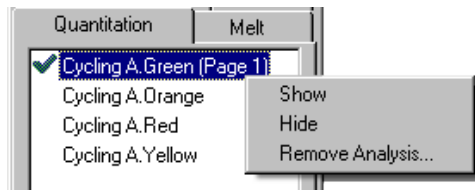


**Auto-shrink window**  
(Автоматично свиване на прозореца):

Избирането на **Auto-shrink window** (Автоматично свиване на прозореца) смалява прозореца, когато той не се използва. Движението на курсора над него го уголемява отново.

### Организиране на работното пространство

Всеки път, когато стартира нов анализ, неговите прозорци се подреждат така, че да отговарят на тези на екрана. Ако са показани много прозорци, това може да е натоварващо. Затворете прозорците, които не ви трябват, след което натиснете **Arrange** (Подреждане) от лентата с инструменти. Прозорците се подреждат автоматично чрез метода **Smart Tiling** (Интелигентно подреждане във вид на плочки). Иначе може да изберете друг метод на подредба като кликнете върху стрелката до бутона **Arrange** (Подреждане). Кликването с десния бутон на мишката върху името на анализа също предоставя допълнителни опции.



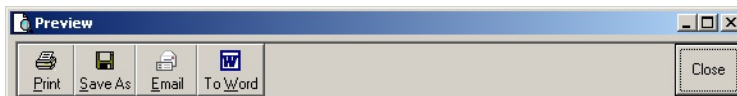
- Show** (Показване): Показва избрания анализ.
- Hide** (Скриване): Скрива избрания анализ.
- Remove Analysis...**  
(Премахване на анализ...): Премахва напълно избрания анализ. Това означава, че всички настройки за нормализиране или бинове за топене, зададени в анализа, ще бъдат загубени.

## 6.6.2 Количествено определяне

Изберете раздела **Quantitation** (Количествено определяне) в прозореца **Analysis** (Анализ) и кликнете два пъти върху името на канала или го изберете и натиснете бутона **Show** (Показване), за да отворите желания канал. Появяват се три прозореца: основен екран, стандартна крива и резултати.

### Отчети

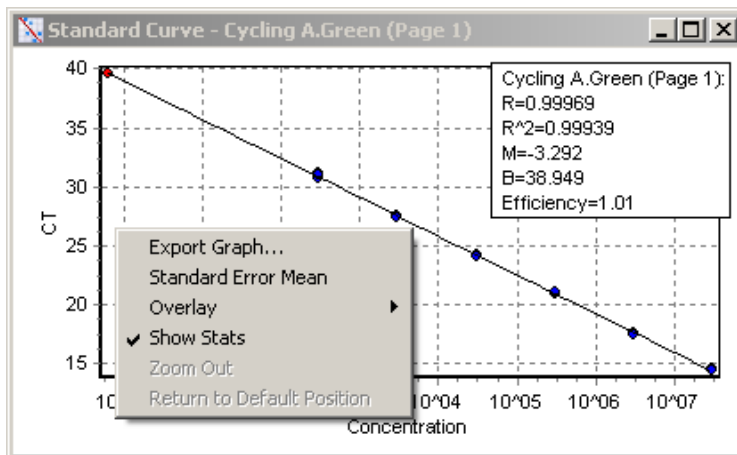
- Reports** (Отчети): **Reports** (Отчети) отваря прозореца **Report Browser** (Браузър за отчети), където може да се генерира отчет за текущия анализ. Има 3 опции: стандартен, пълен и кратък отчет. Кликнете два пъти върху желаната опция, за да отворите отчета в прозореца **Preview** (Визуализация). След като генерирате отчета, бутоните в горния край на прозореца **Preview** (Визуализация) може да бъдат използвани за неговото отпечатване, съхраняване, изпращане или генериране във формат за Word.



### Стандартна крива

- Std. Curve** (Стандартна крива): Този бутон отваря прозореца **Standard Curve** (Стандартна крива). По подразбиране той се отваря при отварянето на анализа. Ако го затворите, той може да бъде отворен отново с тази команда.





Стойностите на стандартната крива се преизчисляват динамично, тъй като нивото на прага се променя чрез кликване и плъзгане на праговата линия в главния прозорец.

Сините точки върху кривата представляват пробите, дефинирани като стандарти, докато червените указват непознатите проби.

**Забележка:** Ако предефинирате стандарти за преизчисляване на стандартната крива, превключването на стандартната видимост на пробата с помощта на превключвателя вдясно на екрана ще я премахне от изчислението на стандартната крива. Премахването на стандарти от графиката за увеличаване на стойността на  $R^2$  не е научно издържано. Проваленият стандарт трябва да бъде включен в анализа, тъй като е признак, че пробите може да са провалени.

Efficiency (Ефективност): Представлява реакционната ефективност на цикъла. Стойността ѝ е разглеждана по-подробно на стр. 97.

$R^2$  value (Стойност на  $R^2$ ) (коефициент на корелация): Стойността  $R^2$ , или стойността  $R^2$  е процентът от данните, които са в съответствие с хипотезата, че стандартите формират стандартна крива. Ако стойността на  $R^2$  е ниска, стандартите се отдалечават от правата линия. Това означава, че резултатите (напр. изчислените концентрации) може да не са надеждни. Добра стойност за  $R^2$  е около 0,999.

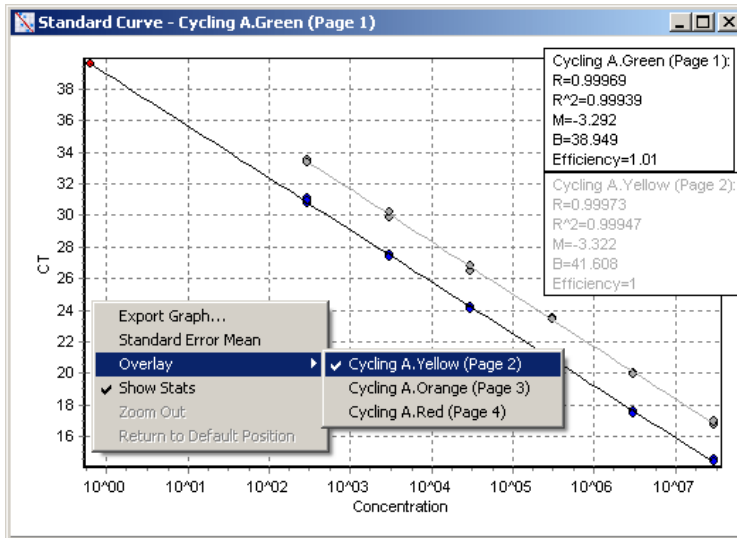
**Забележка:** Възможно е да се постигне висока стойност на  $R^2$  при слаба стандартна линия, ако са използвани по-малко стандарти. Стойността  $R^2$  се увеличава за сметка на броя на стандартите. За по-надеждни резултати използвайте доверителните интервали на изчислените концентрации като ориентири.

R value (Стойност на R) (корен квадратен от коефициента на корелация): Стойността на R е квадратният корен на  $R^2$ . В общи линии стойността на  $R^2$  е по-полезна при определяне на корелацията.

M and B (M и B): Наклонът (M) и пресечната точка (B) на стандартната крива се пресмят автоматично чрез формулата  $y = Mx + B$  и се показват в прозореца Standard Curve (Стандартна крива).

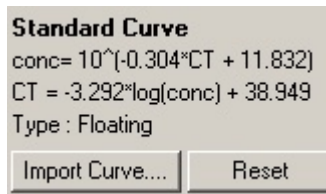
Export Graph... (Експортиране на графика...): Кликването с десния бутон върху стандартната крива визуализира опцията за експортиране на графиката (вижте раздел 7.4).

Overlay (Наслагване): При провеждане на няколко количествени анализа в рамките на един цикъл е възможно стандартните криви да се насложат в един прозорец. Това е полезно за графичен изглед на разликата между различните прагове. Тази функция е показана на екранната снимка по-долу.



### Изчисляване на стандартна крива

„ $\text{conc} = \dots * \text{CT} + \dots$ “ и „ $\text{CT} = \dots$ “ са 2 версии на уравнението, което се използва за свързване на стойностите на CT и концентрациите. В публикациите най-често се използва формулата „ $\text{CT} = \dots$ “. Стандартната крива може да е „Floating“ (Плаваща) или „Fixed“ (Фиксирана). Ако тя е плаваща, оптималното уравнение за стандартната крива се изчислява всеки път, когато прагът се премества в главния прозорец. Ако кривата е фиксирана, уравнението не се променя, тъй като е импортирано от друг цикъл.



### Импортиране на крива

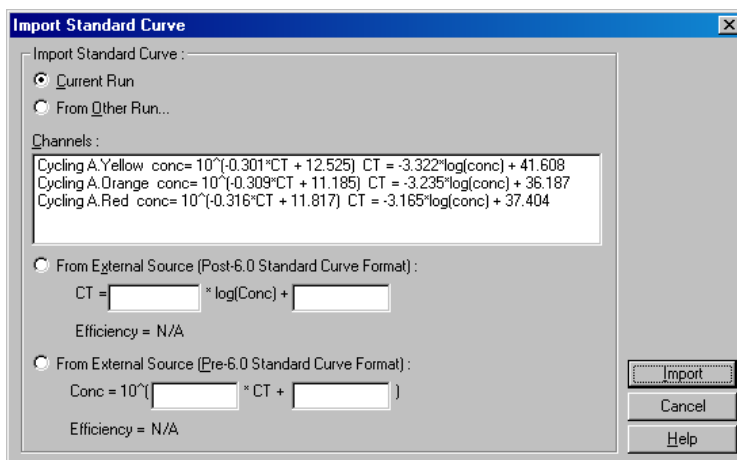
Импортирането на стандартна крива позволява да се пресметнат концентрациите, когато в конкретния цикъл няма стандартна крива и реакционната ефективност не се е променила между два цикъла. Кривите могат да бъдат импортирани от друг канал или от друг цикъл чрез натискане на **Import Curve** (Импортиране на крива).

Възможно е стандартната крива да се коригира, ако е необходимо. Регулирането на стандартната крива означава, че само ефективността на стандартната крива на източника се импортира в конкретния цикъл. Дали стандартната крива трябва да бъде коригирана или не зависи от използваните химични вещества.

За да коригирате стандартната крива, използвайте референция в новия цикъл с известна концентрация. Дефинирайте референцията като настроите вида на пробата на „Standard“ (Стандарт) и въведете стойност на концентрацията в прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби). Множество копия от една и съща референция могат да бъдат въведени, за да се подобри точността. Имайте предвид, че не е възможно да се дефинират повече от една референтни концентрации или стандарти. Например, възможно е да има 3 репликирани референции от 1000 копия, но не може да има една референция от 1000 копия и друга със 100 копия в един и същи цикъл.

След като стандартната крива бъде импортирана, типът на стандартната крива се променя на „Fixed“ (Фиксирана). Кликнете върху **Reset** (Нулиране), за да промените вида ѝ обратно на „Floating“ (Плаваща).

Екранна снимка на прозореца **Import Standard Curve** (Импортиране на стандартна крива) е показана по-долу.



С помощта на този прозорец може да се импортира стандартна крива от друг канал, анализиран в текущия цикъл, или от друг цикъл.

**Current Run** (Текущ цикъл): Когато тази опция е избрана, количествените анализи от други канали на същия цикъл се подреждат в списък със съответните криви.

**From Other Run...** (От друг цикъл...): Избирането на тази опция извежда диалогов прозорец, от който може да бъде избран и отворен `gip` файл. Ако е извършен количествен анализ за цикъла, стандартните криви за всеки анализиран канал са изброени.

**Забележка:** Настройките на количествения анализ трябва да бъдат съхранени в `gip` файла.

**Channels** (Канали): Изброява анализиранияте канали и формулите на стандартните им криви.

**From External Source** (От външен източник): В тази област могат да се въведат директно стойности на *M* и *B*. Това е полезно в случаите, когато стойностите са от външен източник, напр. електронна таблица на Excel.

## Изчисляване на C<sub>T</sub>

### Invert Raw Data (Инвертиране на необработени данни):

Някои химичните вещества дават флуоресцентен сигнал, който намалява експоненциално, вместо да нараства. Тези данни могат да бъдат анализирани чрез „Quantitation“ (Количествено определяне), но е необходимо да се постави отметка в квадратчето **Invert Raw Data** (Инвертиране на необработени данни). Тази опция трябва да остане без отметка за всички останали количествени анализи.

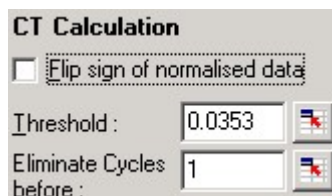


### C<sub>T</sub> Calculations (Изчисления на C<sub>T</sub>):

Стойността на C<sub>T</sub> представлява броят цикли в точката, където кривата на амплификация пресича прага на откриване. Чрез задаването на праговата линия и изчисляването на пресечната точка с всяка от кривите, се пресмятат стойностите на C<sub>T</sub> за всяка от пробите.

### Threshold (Праг):

За да зададете прага, кликнете върху иконата (мрежа с червена стрелка), след това кликнете с мишката и задръжте върху графиката, като плъзнете линията до желаното ниво. Друга възможност е да въведете стойност от регистъра. Като алтернатива може да се използва функцията **Auto-Find Threshold** (Автоматично определяне на прага) за автоматично определяне на прага. Ръчното настройване на прага трябва стане в експоненциалната фаза на цикъла, значително над фоновото ниво, за да се избегне шума, и под началото на сигналното плато в по-късните цикли.



### Eliminate Cycles before (Премахване на цикли преди):

За да зададете функцията, кликнете върху иконата (мрежа с червена стрелка), след това кликнете с мишката и задръжте върху графиката, като плъзнете линията надясно. Това премахва прага за ранните цикли.

**Забележка:** Това е полезно, когато има шум при ранните цикли, напр. поради смесване на пробите.

### Auto-Find Threshold (Автоматично определяне на прага):

Сканира участък от графиката, за да избере гранична стойност, даваща оптимална оценка за концентрациите. Участъкът може да се промени чрез въвеждане на нови горна и долна граници в текстовите полета, които се появяват.

За повечето анализи зададените долна и горна граници са уместни по подразбиране. Обхватът от гранични стойности се сканира, за да се получи най-точно стандартната крива въз основа на пробите, определени за стандарти (напр. където стойността на R е най-близка до 1,0).



## Резултати

Отваря прозореца **Quantitation Results** (Резултати от количествено определяне). По подразбиране той се отваря при отварянето на анализа. Ако е бил затворен, той може да бъде отворен отново с тази команда.

Quant. Results - Cycling A.Green (Page 1)														
Analysis	No.	Colour	Name	Type	Ct	Ct Comment	Given Conc	Calc. Conc [c]	% Var	Rep. Ct	Rep. Ct Std	Rep. Ct (95% CI)	Rep. Calc. Conc	Rep. Calc. Conc (95% CI)
Cycling A.Green (Page 1)	1	Red	10e8	Standard	3.73		1.00E+08	7.17E+07	28.1%	3.73	0.00	(3.73 - 3.74)	7.17E+07	(1.17E+07, 4.39E+08)
Cycling A.Green (Page 1)	2	Red	10e8	Standard	3.74		1.00E+08	7.17E+07	29.3%					
Cycling A.Green (Page 1)	3	Red	10e8	Standard	3.74		1.00E+08	7.16E+07	29.4%					
Cycling A.Green (Page 1)	4	Orange	10e7	Standard	6.11		1.00E+07	1.44E+07	44.0%	6.06	0.06	(5.91 - 6.21)	1.49E+07	(3.29E+06, 6.73E+07)
Cycling A.Green (Page 1)	5	Orange	10e7	Standard	6.08		1.00E+07	1.47E+07	46.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	6	Orange	10e7	Standard	5.95		1.00E+07	1.56E+07	55.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	7	Green	10e6	Standard	10.43		1.00E+06	7.72E+05	22.8%	10.38	0.09	(10.15 - 10.60)	8.00E+05	(2.62E+05, 2.44E+06)
Cycling A.Green (Page 1)	8	Green	10e6	Standard	10.27		1.00E+06	8.58E+05	14.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	9	Green	10e6	Standard	10.43		1.00E+06	7.71E+05	22.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	10	Green	10e5	Standard	13.49		1.00E+05	9.68E+04	3.2%	13.65	0.13	(13.31 - 13.98)	8.74E+04	(2.96E+04, 2.59E+05)
Cycling A.Green (Page 1)	11	Green	10e5	Standard	13.75		1.00E+05	8.13E+04	18.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	12	Green	10e5	Standard	13.69		1.00E+05	8.48E+04	15.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	13	Blue	10e4	Standard	15.66		1.00E+04	2.24E+04	123.7%	15.46	0.25	(14.84 - 16.08)	2.56E+04	(7.62E+03, 8.36E+04)
Cycling A.Green (Page 1)	14	Blue	10e4	Standard	15.54		1.00E+04	2.42E+04	141.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	15	Blue	10e4	Standard	15.18		1.00E+04	3.09E+04	208.8%					
Cycling A.Green (Page 1)	16	Blue	10e3	Standard	21.36		1.00E+03	4.71E+02	52.9%	21.09	0.24	(20.49 - 21.69)	5.65E+02	(9.13E+01, 3.50E+03)
Cycling A.Green (Page 1)	17	Blue	10e3	Standard	20.89		1.00E+03	6.47E+02	25.3%					
Cycling A.Green (Page 1)	18	Blue	10e3	Standard	21.02		1.00E+03	5.94E+02	40.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	19	Black	10e2	Standard		NEG (Multi Ct)	1.00E+02							
Cycling A.Green (Page 1)	20	Black	10e2	Standard	23.98		1.00E+02	7.99E+01	20.1%					
Cycling A.Green (Page 1)	21	Black	10e2	Standard		NEG (Multi Ct)	1.00E+02							
Cycling A.Green (Page 1)	22	Black	NTC	NTC		NEG (NTC)								
Cycling A.Green (Page 1)	23	Black	NTC	NTC		NEG (NTC)								
Cycling A.Green (Page 1)	24	Black	NTC	NTC		NEG (NTC)								

Резултатите от цикъла са обобщени в таблица в прозореца **Quantitation Results** (Резултати от количествено определяне). Кликването с десния бутон на мишката и избора на **Export to Excel** (Експортиране в Excel) експортира таблицата в Excel. Excel се отваря автоматично. За да копирате данните в съществуваща таблица, изберете опцията **Copy** (Копиране), отворете таблицата и изберете **Paste** (Поставяне).

Прозорецът **Quantitation Results** (Резултати от количествено определяне) включва следните колони.

- Analysis (Анализ): Текущият набор от данни (канал за получаване и страница на проба).
- No. (№): Номер на пробата.
- Color (Цвят): Дефиниран цвят за отделните проби в графиката.
- Type (Тип): Дефиниран тип проба.
- Ct: Определена стойност на Ct.
- Ct Comment (Коментар за Ct): Автоматична бележка за определянето на Ct, в случай, че стойностите на Ct са изключени. Възможни са следните флагове:  
 NEG (Multi Ct): Прагът пресича флуоресцентната крива поне два пъти (двойно пресичане). Стойността на Ct не може да се определи еднозначно.  
 NEG (NTC): Общото увеличение на флуоресценцията не отговаря на условията, определени във функцията „NTC threshold“ (Праговата стойност на NTC) на менюто **Outlier Removal** (Отстраняване на отклоненията) (вижте по-долу). Например, кривата на флуоресценция пресича дадения праг, но незначителното общо увеличение на наклона предполага контрола без шаблон и не се дава стойност на Ct.  
 NEG (R.Eff): Общото увеличение на флуоресценцията не отговаря на условията, определени във функцията „Reaction efficiency threshold“ (Праг на реакционна ефективност) на менюто **Outlier Removal** (Отстраняване на отклоненията) (вижте по-долу). Пробите, които нямат определена реакционна ефективност, се изключват и не се дава стойност на Ct. Този флаг се визуализира само ако съответната функция е активирана.
- %Var (% на вариация): Процент на вариация между изчислената и известната концентрации.  

$$\%Var = \frac{Abs(Изчислена/Дадена - 1)}{1}$$
- Rep. Ct (Ct на повторенията): Средната стойност на Ct за всички проби със същото име като тази проба.
- Rep. Ct Std. Dev. (Стандартното отклонение на Ct за повторенията): Стандартното отклонение на стойността на Ct за всички проби със същото име като тази проба.

Rep. Ct. 95% C.I. (Ct за повторенията с 95% ДИ):

Обхват на Ct, който статистически отговаря на 95% от вариацията на стойността на Ct. Това е консервативна статистическа величина, която може да се използва като индикатор за качеството. Този обхват може да бъде стеснен чрез извършването на повече повторения или чрез постигането на по-малки вариации между повторенията.

Rep. Calc. Conc. (Изчислена концентрация на повторенията):

Изчислената концентрация на всички проби със същото име.

**Забележка:** Това не е средно аритметично на изчислените концентрации. Това е средната геометрична стойност, която е математически по-уместна средна стойност поради експоненциалния характер на усилването в реално време.

Rep. Calc. Conc. 95% C.I. (Изчислена концентрация на повторенията с 95% ДИ):

Диапазон от концентрации, който представлява 95% от вариацията в отделната проба, както и модела на линейна регресия, на който се основава. Тълкуването на тази величина е, че тя представлява диапазонът от концентрации, който може да се очаква в 95% от случаите, ако този цикъл се повтори многократно при същата вариация. Това е консервативна оценка и диапазонът може да бъде доста голям поради вариацията, присъща на всеки анализ в реално време. Този диапазон може да бъде голям, ако стандартите се измерят в концентрации, различни от тези на непознатите проби, ако се използва малък брой повторения или ако има значителна вариация.

**Важно:** Вариациите, докладвани от тази величина, са присъщи на експоненциалния процес на усилване в реално време и не се дължат на Rotor-Gene Q MDx. Подобни тестове, извършени на блокови циклери, биха довели до по-големи вариации поради по-ниската еднородност на температурата на блоковите системи. За да сравните циклерите, ако желаете, препоръчваме да сравните стандартното отклонение на стойността на Ct.

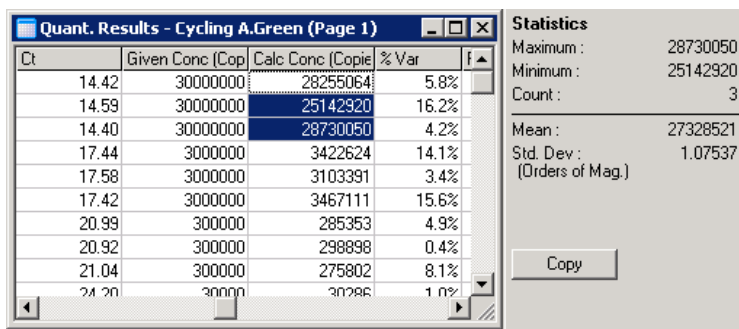
**Забележка:** Повече информация за доверителния интервал може да намерите в Приложение Б.

**Забележка:** С изключение на Color, Name, Ct и Ct Comment, всяка от колоните може да бъде показана или скрита чрез кликуване в прозореца с десния бутон и избиране или отмяна на името на колоната.

No.	Ct	Name	Ct Comment	Given Conc (Cop)	Calc. Conc (Copie)	% Var
1		3x10 <sup>8</sup>		300.000.000.	324.345.068,	8,1%
2		3x10 <sup>8</sup>	Analysis			
3		3x10 <sup>8</sup>	✓ No.	300.000.000.	301.264.230.	0,4%
4		3x10 <sup>8</sup>	✓ Color	300.000.000.	308.453.920,	2,8%
5		3x10 <sup>7</sup>	✓ Name	300.000.000.	298.576.301,	0,5%
6		3x10 <sup>7</sup>	Type	30.000.000.	27.524.578,	8,3%
7		3x10 <sup>7</sup>	✓ Ct	30.000.000.	26.405.444,	12,0%
8		3x10 <sup>7</sup>	✓ Ct Comment	30.000.000.	28.701.296,	4,3%
9		3x10 <sup>6</sup>	✓ Given Conc (Copies)	30.000.000.	23.847.613,	20,5%
10		3x10 <sup>6</sup>	✓ Calc Conc (Copies)	3.000.000.	3.392.142,	13,1%
11		3x10 <sup>6</sup>	✓ % Var	3.000.000.	3.170.880,	5,7%
12		3x10 <sup>6</sup>	✓ Rep. Ct	3.000.000.	3.130.752,	4,4%
13		3x10 <sup>5</sup>	✓ Rep. Ct Std. Dev.	3.000.000.	3.166.396,	5,5%
14		3x10 <sup>5</sup>	✓ Rep. Ct (95% CI)	300.000.	321.913,	7,3%
15		3x10 <sup>5</sup>	Rep. Calc. Conc.	300.000.	305.744,	1,9%
16		3x10 <sup>5</sup>	Rep. Calc. Conc. (95% CI)	300.000.	312.045,	4,0%
17		3x10 <sup>4</sup>	19,47	30.000.	324.696,	8,2%
18		3x10 <sup>4</sup>	19,59	30.000.	32.420,	8,1%
19		3x10 <sup>4</sup>	19,53	30.000.	29.872,	0,4%
20		3x10 <sup>4</sup>	19,52	30.000.	31.102,	3,7%
21		3x10 <sup>3</sup>	22,93	3.000.	31.301,	4,3%
22		3x10 <sup>3</sup>	22,96	3.000.	2.850,	5,0%
23		3x10 <sup>3</sup>	22,94	3.000.	2.793,	6,9%
24		3x10 <sup>3</sup>	22,91	3.000.	2.825,	5,8%
25		3x10 <sup>2</sup>	26,03	300.	2.888,	3,7%
26		3x10 <sup>2</sup>	26,11	300.	322,	7,5%
27		3x10 <sup>2</sup>	26,26	300.	305,	1,6%
28		3x10 <sup>2</sup>	26,18	300.	275,	8,5%
					291,	3,1%

За удобство функцията **AutoStat** (Автоматична статистика) изчислява автоматично средното, стандартното отклонение и минималните и максималните стойности на желаните проби. Изберете желаните резултати като задържите левия бутон на мишката върху тях, след което ги преместите с плъзгане, при което стойностите се показват в таблица вдясно на екрана.

На тази екранна снимка са анализирани концентрациите на няколко проби.



**Важно:** Функцията **AutoStat** (Автоматична статистика) отчита контекста. Това означава, че където е възможно, дава само информация, която е от полза.

Например:

- Не е възможно да постигнете доверителен интервал от 95% от набор от избрани концентрации, тъй като регресионният модел също трябва да се вземе под внимание.
- За изчислени концентрации се отчита стандартното отклонение „Orders of Magnitude“ (Порядък на величината), а не абсолютната стойност. Това е процентна вариация. Например стойност от 1,07537 съответства на 7,54% вариация  $(278\ 974 - 322\ 611) = (300\ 000/1,07537 - 300\ 000 * 1,07537)$ . Абсолютната стойност обезсмисля стандартната крива. Стойността може да бъде отчетена при най-ниската концентрация, за да се създаде допустима ниска грешка ( $\pm 3$  копия) или при високата концентрация ( $\pm 3\ 000\ 000$  копия). По тази причина се отчита стандартното отклонение „Orders of Magnitude“ (Порядък на величината).
- За изчислените концентрации се използва средната геометрична стойност вместо средната аритметична. Това обяснява експоненциалния характер на real-time PCR. Например при двукратни разреждания с 1, 2, 8 и 16 копия, средната стойност трябва да е 4 копия, тъй като това е средата на серията за разреждане. Средноаритметичната стойност обаче е 6,75. Средната геометрична е  $(1 * 2 * 8 * 16)^{(1/4)} = 4$  копия.

## Нормализиране на динамична епруветка

Опцията **Dynamic Tube** (Динамична епруветка) е избрана по подразбиране и се използва за определяне на средния шум на всяка проба точно преди началото на усилването.

Стандартното нормализиране взема първите 5 цикъла и ги използва като индикатор за нивото на шума за всяка проба. Всички стойности за пробата се делят на тази стойност, за да се нормализират данните. Това може да е неточно, тъй като за някои проби нивото на шума през първите 5 цикъла може да не е показателно за шума непосредствено преди амплификацията. За разлика от това, динамичното нормализиране на епруветката използва втората производна на всяка следа на пробата, за да определи точката на отделяне за всяка проба. След това ниво на шума се осреднява от цикъл 1 до съответния номер на цикъла на отделяне за всяка проба. Това дава най-прецизните количествени резултати.

Имайте предвид, че за някои набори от данни фоновата флуоресценция не е последователна по време на циклите преди началото на усилването. В тези случаи може да се наложи да премахнете избора за нормализиране на динамична епруветка, като кликнете върху **Dynamic Tube** (Динамична епруветка), тъй като това може да доведе до намаляване прецизността на количествения анализ.

## Корекция на наклона на шума

Фоновата флуоресценция (FI) на пробата в идеалния случай остава постоянна преди усилването. Въпреки това, понякога FI показва постепенно увеличение или намаление в продължение на няколко цикъла поради използваните химични вещества. Това води до неравномерно ниво на шума. Корекцията на наклона на шума използва най-подходящата линия за определяне на нивото на шума вместо средна стойност и се нормализира към тази линия. Избирането на тази опция чрез кликане върху бутона **Slope Correct** (Корекция на наклона) може да подобри данните от повторенията, ако базовите линии на пробите са видимо наклонени. Корекцията на наклона на шума подобрява данните при положителен или отрицателен наклон на фона преди точката на отделяне (Ct).

Когато наклонът не е стабилен или първоначалните цикли на базовата линия показват значително увеличение или намаление на сигнала в сравнение с останалата част от кривата, корекцията на наклона на шума може да доведе до някои нежелани ефекти, като отрицателни контролни криви, преминаващи прага поради приближаване на изходната линия като линия с най-добро съвпадение и съответно нормализиране на необработените данни. Вследствие на това тази функция не винаги подобрява качеството на данните и трябва да се използва само ако кривите на необработените данни показват постоянен наклон.



### Корекция на точката на отделяне

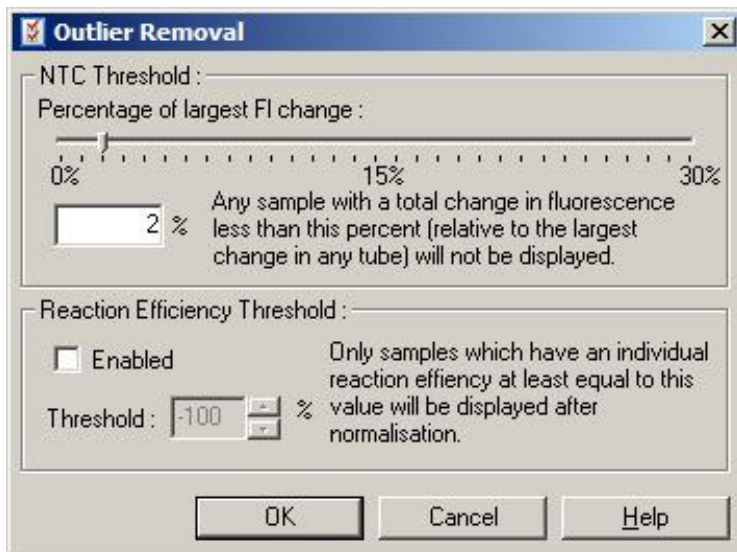
Алгоритъмът за настройка на точката на отделяне може да се използва за определяне на минимална дължина на базовата линия, използвана за нормализиране. За да се приложи настройката на точката на отделяне, трябва да се дефинират два параметъра. Ако точка на отделяне е изчислена от **Dynamic Tube** (Динамична епруветка), която е по-ниска от първия параметър, тогава за точка на отделяне се използва вторият параметър. Корекцията на точката на отделяне може да се използва само във връзка с нормализиране на **Dynamic Tube** (Динамична епруветка).

### Игнориране на първите

Флуоресцентният сигнал от първите няколко цикъла може да не е показателен за останалата част от тях. Поради тази причина, първите няколко цикъла могат да се пренебрегнат за постигането на по-добри резултати. Могат да бъдат игнорирани до 10 цикъла. Въпреки това, ако първите цикли изглеждат подобни на следващите, по-добри резултати ще бъдат постигнати чрез премахване на избора на „**Ignore First**“ (Игнориране на първите), тъй като алгоритъмът за нормализиране ще изпълва повече данни за работа.

### Отстраняване на отклоненията

За разграничаване на малки промени във флуоресценцията и същинска реакция в контролата без шаблон (NTC), са налични 2 мерки: **NTC Threshold** (Праговата стойност на NTC) и **Reaction Efficiency Threshold** (Праг на реакционна ефективност). Опцията **NTC Threshold** (Прагова стойност на NTC) се препоръчва за повечето приложения. Използваният подход трябва да се валидира.



**NTC Threshold** (Прагова стойност на NTC):

Позволява проби или NTC с леко отклонение нагоре да бъдат изключени от анализа. Всички проби с промяна под „NTC Threshold“ (Прагова стойност на NTC) няма да бъдат отчитани и в колоната „CT Comment“ (Коментар за CT) ще се визуализира флагът „NEG (NTC)“.

Процентът е спрямо най-голямата максимална промяна, открита във всяка епруветка. Например ако дадена проба започва при фон от 2 FI и се увеличава до 47 FI, то 45 FI съответства на 100%. „NTC Threshold“ (Прагова стойност на NTC) от 10% ще приеме всяка проба по-малка от 4,5 FI за шум.

**Reaction Efficiency Threshold** (Праг на реакционна ефективност):

„Reaction Efficiency Threshold“ (Праг на реакционна ефективност) е алтернативен метод за изключване на шума от анализа. Този нормализиращ алгоритъм използва техниките за оценка на ефективността на реакцията, използвани при сравнително количествено определяне (вижте раздел 6.6.6). Всички проби, които нямат реакционна ефективност поне от това ниво, се изключват и в колоната „CT Comment“ (Коментар за CT) ще се визуализира флагът „NEG (R.Eff)“.

Ниво от 0% показва, че по време на експоненциалната фаза не е настъпила реакция. 100% показва, че по време на експоненциалната фаза е протекла напълно ефективна реакция. Отрицателните проценти показват, че по време на експоненциалната фаза флуоресцентният сигнал намалява.

Настоящите изследвания относно точните нива на ефективност, необходими за разграничаване на истинските реакции от замърсяването и други ефекти, не са достатъчно убедителни. Поради тази причина препоръчваме да използвате тази функция умерено, с допускането, че всяка проба с истинска реакция ще има някаква видима експоненциална фаза с известно увеличение на флуоресценцията. Задаване на тази стойност по-висока от 0% ще изключи някои проби с неефективно, но забележимо увеличение на флуоресценцията, докато настройката под 0% ще покаже проби с намаляваща флуоресценция по време на експоненциалната фаза, които очевидно трябва да бъдат изключени.

**Забележка:** Ако дадена стойност е изключена поради активиране на някоя от тези техники, съответната стойност на CT в прозореца **Quantitation Results** (Резултати от количествено определяне) няма да бъде показана. Едновременно с това в колоната „CT Comment“ (Коментар за CT) ще се визуализира флаг, показващ изключването. Ето защо е важно да се уверите, че колоната „CT Comment“ (Коментар за CT) се показва по всяко време.

На изображението по-долу проби 7, 8 и 9 са изключени заради „Reaction Efficiency Threshold“ (Праг на реакционна ефективност).

No.	Name	Type	Ct	Ct Comment	Given Conc (copies/reaction)
7	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
8	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
9	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
10	10e5	Standard	15,04		1,00E+05
11	10e5	Standard	15,03		1,00E+05
12	10e5	Standard	15,05		1,00E+05

### Наклон, усилване, ефективност на реакцията

Наклонът (M) на реакцията (показан в прозореца **Standard Curve** (Стандартна крива)) може да се използва за определяне на експоненциалното усилване и ефективността на реакцията, като се използват следните изчисления:

$$\text{Експоненциално усилване} = 10^{(-1/M)}$$

$$\text{Ефективност на реакцията} = [10^{(-1/M)}] - 1$$

Оптималните стойности за M, експоненциално усилване и ефективност на реакцията са съответно -3,322, 2 и 1. Ефективността на реакцията се визуализира в отчета (в пълния и стандартния отчет, вижте стр. 85) и в прозореца **Standard Curve** (Стандартна крива).

Наклонът се изчислява като промяната в Ct, разделена на промяната във въведените регистрационни данни (напр. брой копия). 100% ефективно усилване означава удвояване на продукта на амплификация във всеки цикъл, което води до M стойност от -3,322, коефициент на усилване 2 и ефективност на реакцията 1.

При стойност на M от -3,322 изчисленията са както следва:

$$\text{Експоненциално усилване: } 10^{(-1/-3.322)} = 2$$

$$\text{Ефективност на реакцията: } [10^{(-1/-3.322)}] - 1 = 1$$

Алтернативен пример: стойност M от 3,8 означава, че реакцията има експоненциално усилване от приблизително 1,83 и ефективност на реакцията от 0,83 (или 83%).

### Отместване

Във формула, описваща връзката между 2 променливи, отместването се изразява с буквата B ( $y = Mx + B$ ). Отместването понякога се разглежда като пресечна точка. Величината B представлява Ct за дадена концентрация от 1 единица. Чрез заместване на 1 във формулата за концентрация, както е показано по-долу:

$$C_T = \log(1) * M + B$$

$$C_T = 0 * M + B$$

Резултатът е  $C_T = B$

Пресечната точка може да се променя за различните цикли и представлява по нестабилно измерване в сравнение с градиента. Поради тази причина градиентът се анализира по-често от пресечната точка.

## Основен прозорец

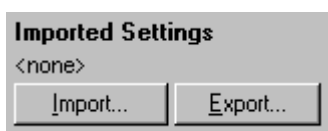
Основният прозорец показва графиките за усилване в логаритмичен мащаб.

Кликването върху **Linear Scale** (Линеен мащаб) в долната част на прозореца променя мащаба от логаритмичен в линеен и обратно. Промяната между тези мащаби променя изгледа на графиките, но не и изчисленията. Това може да се провери с помощта на пинпойнтера, като кликнете с десния бутон върху графиката и изберете **Show pinpointer** (Показване на пинпойнтера). В логаритмичен мащаб, по-малките стойности са по-видими на графиката, докато линейният мащаб способства за прегледа на цялата реакция.

**Забележка:** Графиките за усилване се актуализират в реално време, тъй като Rotor-Gene Q MDx активно получава данни по време на работа. Това наблюдение на данните в реално време позволява на потребителя да види резултатите веднага щом кривите покажат експоненциален растеж. Могат да се направят предварителни заключения и да се вземат решения за следващия цикъл.

## Шаблони за количествен анализ

Шаблоните за количествен анализ позволяват на потребителя да експортира настройки за нормализиране и прагове в един \*.qut файл. Този файл може да бъде импортиран и повторно приложен в други експерименти. Вижте раздел 7.1 за повече подробности.



### 6.6.3 Две стандартни криви

Анализ на относителна гена експресия с нормализиращ ген може да се извърши с помощта на метода на 2-те стандартни криви.

Методът изисква стандартна крива за всеки ген. Концентрацията за всеки ген се определя количествено според неговата стандартна крива. Експресията на желания ген след това се нормализира с нормализиращия ген (често конститутивен ген).

Важно е стандартите и репликираните проби да са обозначени правилно по време на настройката на пробата (вижте раздел „Настройка за пробите“). По-специално, съответните проби трябва да имат едно и също име във всеки анализ. В мултиплексна реакция, където позициите на изследвания и нормализиращия ген съвпадат, е достатъчен един набор от дефиниции. Ако се извършва относителен анализ с нормализиращ ген, използвайки един канал (т.е. реакциите се извършват в отделни епруветки, използвайки един и същ флуорофор), тогава трябва да се създадат две страници с проби. Първата трябва да показва позициите на епруветките с имената за изследвания ген, а останалите позиции да са без име. Втората трябва да показва позициите, използвани за нормализиращия ген. След това софтуерът ще съпостави пробите в двата анализа въз основа на техните имена.

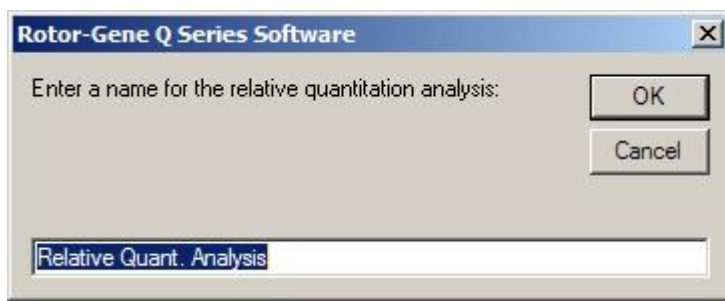
### Анализ на експресията по метода на двете стандартни криви

Данните могат първо да бъдат анализирани за всеки ген с помощта на количествен анализ. В противен случай резултатите за всеки ген ще бъдат определени автоматично с помощта на инструмента **Autofind Threshold** (Автоматично определяне на прага).

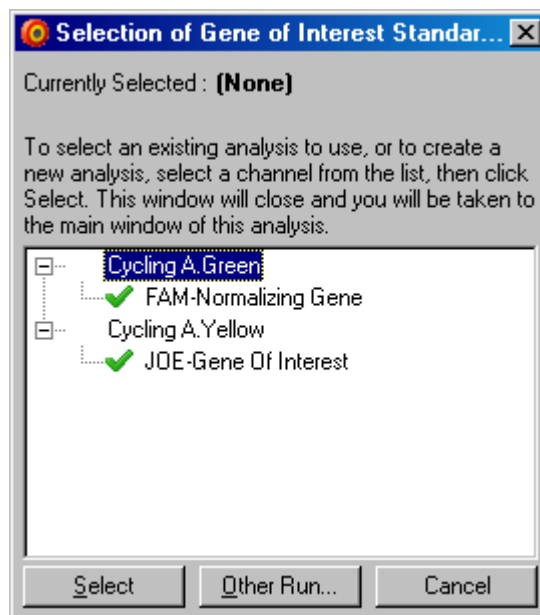
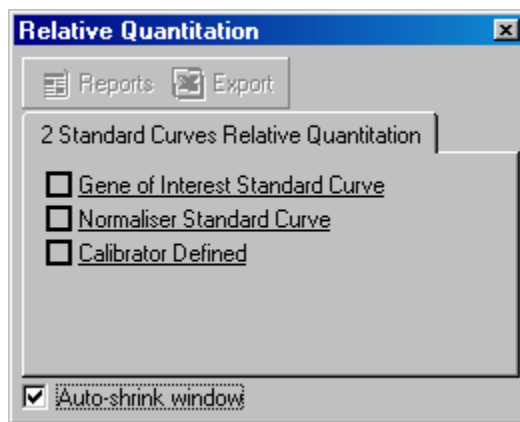
1. От прозореца **Analysis** (Анализ) изберете раздела **2 Std Curve (Rel.)** (Две стандартни криви (относителен)). Кликнете върху **New Analysis...** (Нов анализ...).



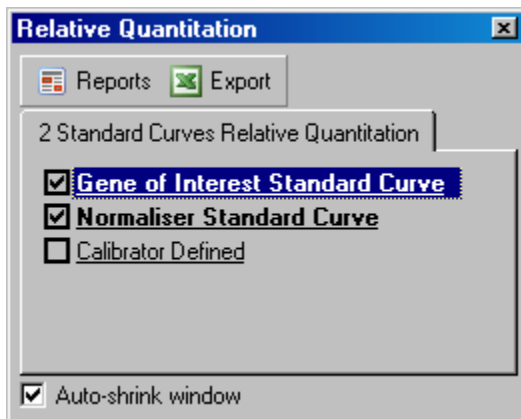
2. Въведете име за анализа.



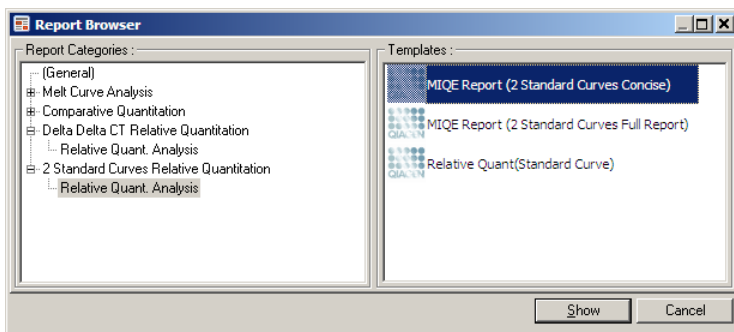
3. Определете страниците, използвани за нормализиращите и изследваните гени. Например кликването върху **Gene of Interest Standard Curve** (Стандартна крива за изследвания ген) извежда прозореца **Selection of Gene of Interest Standard...** (Избор на стандартна крива за изследвания ген...). Изберете страницата, където е количествено определен изследвания ген. Повторете процедурата за нормализацията на ген. По избор може да се дефинира калибратор. Ако тази опция е избрана, на калибратора се присвоява стойност 1 и всички останали концентрации на пробата се изчисляват спрямо тази проба.



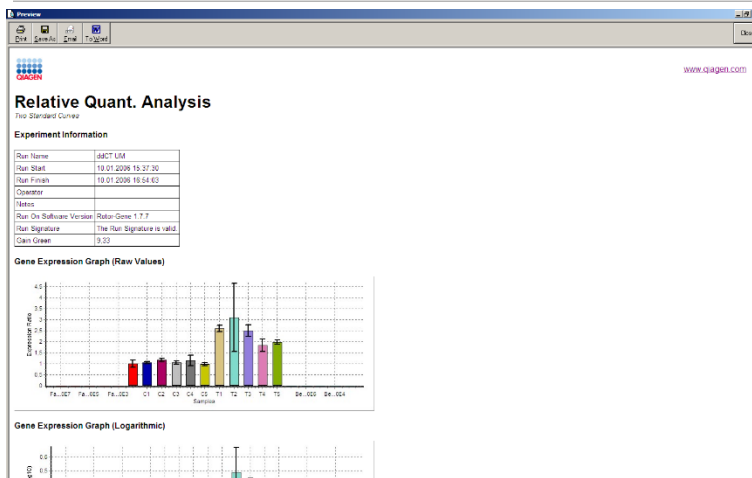
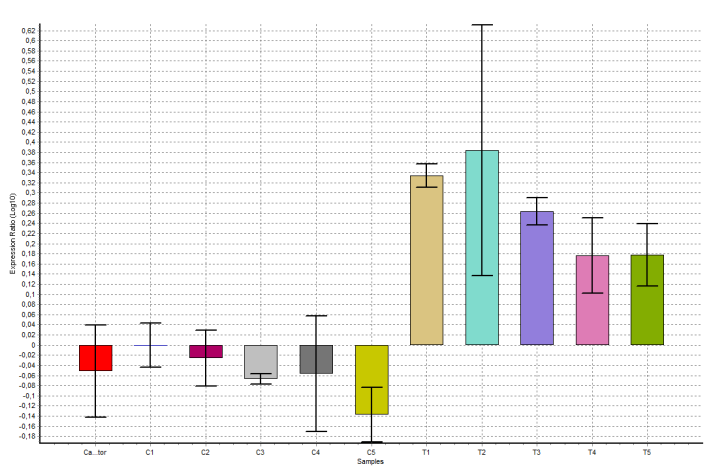
След завършването на избора опциите ще бъдат маркирани с отметка, както е показано по-долу.



4. Кликнете върху бутона **Reports** (Отчети), за да се визуализира **браузърът за отчети**. Изберете анализа с правилното име от списъка. Кликнете върху бутона **Show** (Показване), за да се визуализира отчета за относителното количествено определяне. Опцията **Export** (Експортиране) експортира резултатите в нова електронна таблица на Excel. Ако е включен калибратор, резултатите се изчисляват спрямо пробата за калибриране, на която се присвоява стойност 1.



5. Визуализират се концентрациите, прочетени от стандартните криви за изследвания ген (GOI Conc.) и нормализацията ген (Norm. Conc.), както и относителната концентрация (Relative Conc.). Резултатите могат да бъдат запазени в Word файл.



6. Стойностите Rel Min (Относителен минимум) и Rel Max (Относителен максимум) се генерират чрез изчисляване на стандартното отклонение на квотиента от стандартните отклонения на GOI и Нормализатора, като се използва следната формула:

$$CV_{relconc} = \sqrt{CV_{GOI}^2 + CV_{Norm}^2}$$

където:

$$cv = \frac{s}{X} = \frac{stddev}{meanvalue}$$



#### 6.6.4 Относително количествено определяне по метода делта-делта C<sub>T</sub>

Методът делта-делта C<sub>T</sub> позволява анализ на относителната генна експресия. Той е описан от Livak и Schmittgen (2001 г.).\*

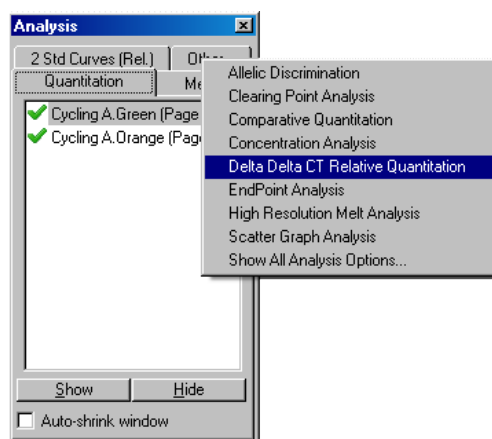
Методът не изисква включването на стандартни криви във всеки цикъл. Всяка проба първо се нормализира за количеството добавен чрез сравнение с нормализацията ген. Тези нормализирани стойности се нормализират още веднъж спрямо калибратора. Калибраторът може да бъде например проба от див тип, необработена контрола или проба с нулево време.

От съществено значение е ефективностите на амплификация на изследвания и нормализацията ген да са идентични и това да е валидирано съгласно препоръките на Livak и Schmittgen.

От съществено значение е имената на пробите да са дефинирани правилно в прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби), като едни и същи проби трябва да са еднакво наименовани при всеки отделен количествен анализ.

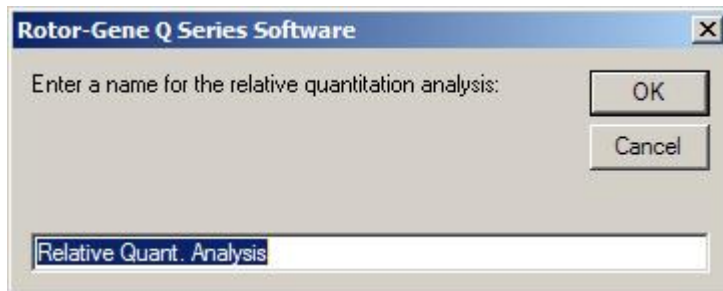
1. Анализирайте данните с помощта на „Quantitation“ (Количествено определяне). Не е необходимо да се построява стандартна крива, след извършване на валидирането.

От раздела **Other** (Други) в прозореца **Analysis** (Анализ) изберете **Delta Delta C<sub>T</sub> Relative Quantitation** (Относително количествено определяне по метода делта-делта C<sub>T</sub>). Изберете **New Analysis** (Нов анализ).

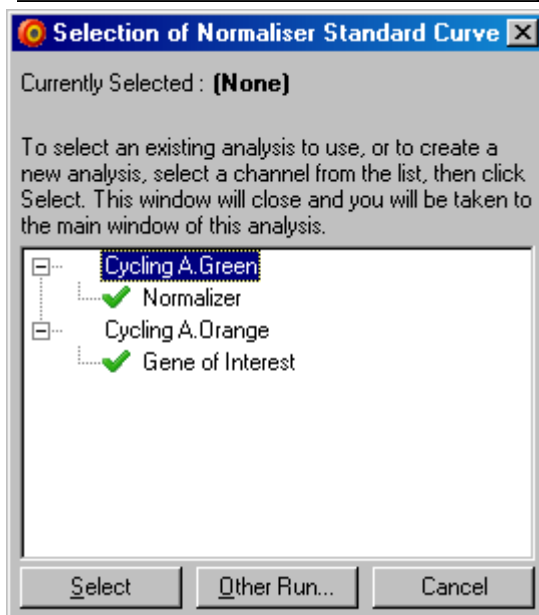
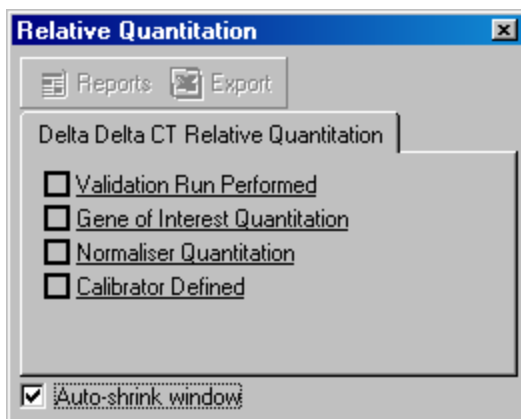


\* Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-ΔΔC<sub>T</sub></sup> method. *Methods* **25**, 402.

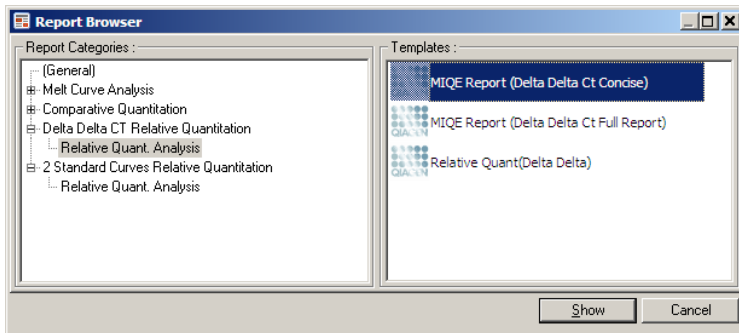
2. Въведете име за анализа.



3. Необходимо е да поставите отметка в квадратчето **Validation Run Performed** (Извършен цикъл за валидиране), за да продължите с анализа. Определете страниците, където са анализирани изследваният и нормализираният ген.



4. Кликнете върху бутона **Reports** (Отчети), за да се визуализира **браузърът за отчети**. Изберете анализа с правилното име от списъка. Кликнете върху бутона **Show** (Показване), за да се визуализира отчета за относителното количествено определяне. Опцията **Export** (Експортиране) експортира резултатите в нова електронна таблица на Excel. Ако е включен калибратор, резултатите се изчисляват спрямо пробата за калибриране, чиято стойност е равна на 1.



Пример за резултати от този анализ е показан по-долу. Показани са стойностите на  $C_T$  за изследвания ген (GOI  $C_T$ ),  $C_T$  стойностите за нормализация ген (Norm.  $C_T$ ), Делта  $C_T$ , Делта-делта  $C_T$  и относителната концентрация (Relative Conc.). Експресията е отнесена към пробата за калибриране с присвоена относителна експресия равна на 1. За допълнителна информация относно получаването на изчисленията на Rel Min (Относителен минимум) и Rel Max (Относителен максимум), вижте Litvak and Schmittgen (2001 г.).\*

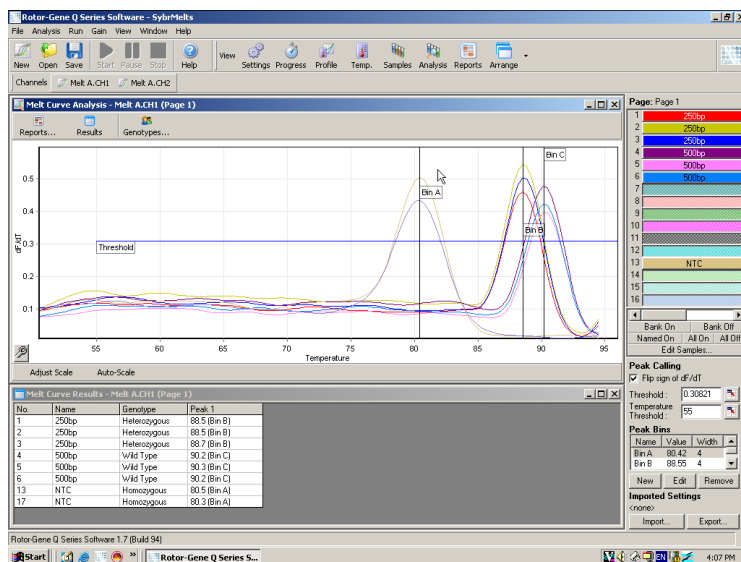
C	Replicate Name	GOI $C_T$	Norm. $C_T$	Delta $C_T$	Delta Delta $C_T$	Relative Conc.	Rel Min	Rel Max	Calibrator
	Dilution 8		28.37						
	Dilution 7	37.61	28.39	9.22	4.40	0.04728	0.04128	0.05414	
	Dilution 6	35.72	28.28	7.44	2.62	0.16228	0.14904	0.17669	
	Dilution 5	35.04	28.24	6.80	1.98	0.25292	0.11715	0.54605	
	Dilution 4	32.94	28.12	4.82	0.00	1.00000	0.69432	1.44025	Yes
	Dilution 3	31.66	28.23	3.43	-1.38	2.60825	2.16257	3.14579	
	Dilution 2	30.05	28.02	2.03	-2.79	6.92153	6.49040	7.38130	
	Dilution 1	28.61	27.92	0.69	-4.12	17.41896	16.47839	18.41322	
	QS 0.1 IU/ $\mu$ l		28.11						
	0.316 IU/ $\mu$ l	37.62	28.10	9.51	4.70	0.03857	0.03633	0.04094	
	1 IU/ $\mu$ l	36.84	28.15	8.69	3.88	0.06805	0.04415	0.10489	
	3.16 IU/ $\mu$ l	34.45	28.05	6.40	1.59	0.33305	0.28206	0.39325	
	QS4	32.67	28.29	4.38	-0.43	1.34925	1.09820	1.65770	
	QS3	30.07	27.98	2.09	-2.73	6.61982	6.18888	7.08076	
	QS2	26.98	27.64	-0.76	-5.57	47.61474	45.02202	50.35677	
	QS1	24.07	27.10	-3.03	-7.85	230.60440	208.45384	255.10870	

### 6.6.5 Анализ на кривата на топене

Анализът на кривата на топене анализира производната на необработените данни след изглаждане. Този анализ обикновено се използва за генотипиране и алелна дискриминация. Пиковите в кривата се групират в бинове и всички пикове под прага се изключват. След това биновете могат да бъдат картографирани в генотипи с помощта на командата „Genotypes“ (Генотипи).

\* Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C(T)}$  method. *Methods* **25**, 402.

След като цикълът приключи, за някои химични вещества може да се добави стъпка на топене, за да се визуализира кинетиката на дисоциация на амплифицираните продукти. Температурата се увеличава линейно и флуоресценцията за всяка проба се отчита. Типичен анализ на кривата на топене е показан по-долу.



**Peak Calling**

Flip sign of dF/dT

Threshold : 0.30821

Temperature Threshold : 55

**Peak Bins**



Name	Value	Width
Bin A	80.42	4
Bin B	88.55	4

New Edit Remove

**Imported Settings**

<none>

Import... Export...

<b>Flip sign of dF/dT</b> (Обръщане знака на dF/dT):	Преди да дефинирате пиковите се уверете, че знакът dF/dT е правилен за набора от данни за положителни пикове.
<b>Defining peaks</b> (Определяне на пиковите):	<p>При анализа на кривата на топене пиковите могат да бъдат дефинирани и отчетени с помощта на различни методи. Единият е да се генерират автоматично всички пикове за всяка проба. Друг е групирането им в бинове, полезно при генотипирането.</p> <p>Биновете определят областта, където се очаква да се появят пикове. Софтуерът за анализ на кривата на топене разделя пиковите в групи от бинове въз основа на действителните пикови стойности в кривата. Биновете могат да бъдат редактирани, ако е необходимо.</p> <p>Всеки пик в рамките на дефинирания обхват на бина ще бъде присвоен към него. Ако наблизо има два бина, пикът ще попадне в по-близкия.</p> <p><b>Забележка:</b> Биновете не трябва да се позиционират визуално за оценка на позициите на пиковите. Настройте биновете приблизително, след което използвайте отчетените стойности за по-точни резултати.</p>
<b>Peak Bins</b> (Бинове за пикове):	За да дефинирате бин, кликнете върху бутона <b>New Bin</b> (Нов бин), след което кликнете в задръжте бутона върху графиката, за да дефинирате центъра на бина. За да добавите още един бин, повторете процеса. Използвайте бутона <b>Remove</b> (Премахване), за да изтриете биновете.
<b>Threshold</b> (Праг):	За да зададете прага (ос Y), кликнете върху иконата  , след това кликнете и задръжте копчето върху графиката и плъзнете линията на прага до желаното ниво.
<b>Temperature Threshold</b> (Температурен праг):	За да зададете температурен праг (ос X), кликнете върху иконата  , след това кликнете и задръжте копчето върху графиката и плъзнете линията на прага надясно. Това елиминира прага за по-ниски температури.
	<b>Забележка:</b> Това е полезно при наличие на шум при ниските температури.

## Отчети

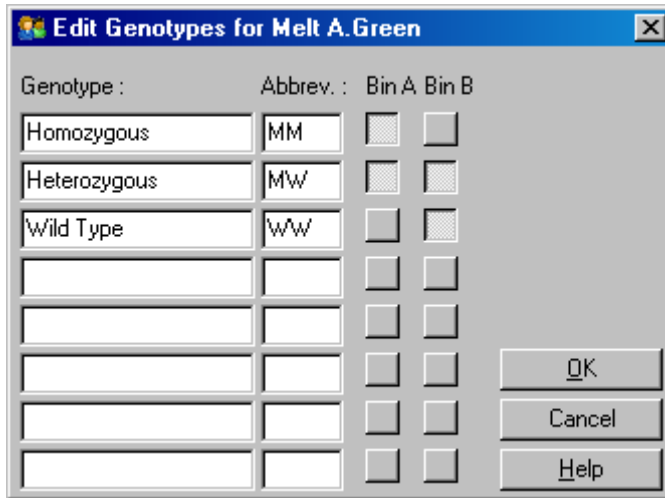
Отваря **Report Browser** (Браузър за отчети), където могат да се избират отчети за визуализация. Може да се генерира отчет въз основа на текущия избран канал или да се генерира многоканален отчет за генотипиране.

## Results (Резултати)

Визуализира прозореца **Melt Curve Results** (Резултати от кривата на топене), в който се виждат пиковите на пробите.

## Genotypes (Генотипи)

Кликнете върху **Genotypes...** (Генотипи...) и изберете генотипите, както е показано по-долу.



Този прозорец позволява задаването на генотипи според честотата на пиковете в биновете. На изображението е показана стандартната генотипна конфигурация, където хетерозиготните проби са с два пика, хомозиготните – с пик в първия бин, а дивият тип – с пик във втория бин. В полето до името на всеки генотип може да се въведе съкращение. Това се използва при отпечатване на многоканални отчети за генотипиране, за лесно разчитане на резултатите от множество канали.

За мултиплексен анализ трябва да се зададат генотипи във всеки канал. При двуканален угасен FRET анализ, например, където във всеки канал се очакват див тип и хетерозиготи, параметрите на биновете трябва да се настроят за всеки канал. След това резултатите ще бъдат изведени под формата на мултиплексен отчет.

### Шаблони за анализ на топене

Шаблоните за анализ на топене позволяват на потребителя да експортира настройките за нормализиране, праг, генотипи и бинове в един общ \*.met файл. Този файл може да бъде импортиран и повторно приложен в други експерименти. Вижте раздел 7.1 за повече подробности.



### 6.6.6 Сравнително количествено определяне

Сравнителното количествено определяне сравнява относителната експресия на пробите с контролната проба в даден цикъл, когато стандартната крива не е налична. Това често се използва при анализ на микрочипове. Warton и колеги (2004 г.)<sup>\*</sup> дават пример за тази техника.

1. За да извършите анализа, изберете **Other** (Други) и след това **Comparative quantitation** (Сравнително количествено определяне) в прозореца Analysis (Анализ). Кликнете два пъти върху желанния канал.
2. Изберете контролна проба, като използвате падащото меню от дясната страна на екрана под превключвателя.
3. Резултатите се изчисляват автоматично и се визуализират в прозореца **Comparative Quantitation Results** (Резултати от сравнително количествено определяне).

Първите колони на прозореца **Comparative Quantitation Results** (Резултати от сравнително количествено определяне) показват номера и името на пробата. Колоната **Takeoff** (Отделяне) показва точката на отделяне на пробата. Втората производна на диаграмата на усилване произвежда пикове, съответстващи на максималната скорост на нарастване на флуоресценцията в реакцията. Точката на отделяне се дефинира като цикъл, при който втората производна е на 20% от максималното ниво и бележи края на шума и прехода към експоненциална фаза.

Тази графика визуализира втората производна на диаграмата на усилване с относителните позиции на пика на втората производна и точката на отделяне.

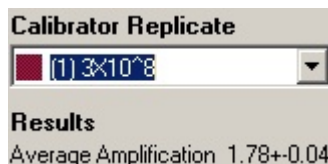


<sup>\*</sup> Warton, K., Foster, N.C., Gold, W.A., and Stanley, K.K. (2004) A novel gene family induced by acute inflammation in endothelial cells. *Gene* **342**, 85.

Колоната „Amplification“ (Усилване) показва ефективността на пробата. 100% ефективна реакция би довела до стойност на усилване от 2 за всяка проба, което означава удвояване на ампликона на всеки цикъл. При необработените данни сигналът трябва да се удвоява в експоненциална фаза. Например, ако сигналът е бил 50 флуоресцентни единици в цикъл 12 и след това 51 флуоресцентни единици в цикъл 13, той трябва да се увеличи до 53 флуоресцентни единици в цикъл 14. Всички стойности на усилване за всяка проба се осредняват, за да се получи стойността на усилване, показана вдясно на екрана под превключвателя. Колкото по-голямо е вариацията между изчислените стойности на усилване на всяка проба, толкова по-голям ще бъде доверителният интервал (обозначен със стойността след знака  $\pm$ ). Доверителният интервал за голям брой проби (N) дава 68,3% вероятност истинското усилване на пробите да е в този диапазон (стандартно отклонение равно на 1). Чрез удвояване на интервала  $\pm$  се постига 95,4% доверителен интервал за голямо N.

### Репликиране на калибратора

Както при метода делта-делта Ст, е необходима проба за калибриране и измерванията се изчисляват спрямо нея. Могат да се анализират повторения на калибратора, тъй като, ако множество позиции на пробата имат едно и също име, ще се използва средната стойност на точките на отделяне на тези проби. За да използвате правилно тази функция, уверете се, че повторенията имат идентични имена.



Средното усилване се използва за изчисляване на експресията. Например проба с ниска стойност на усилване ще достига за по-дълго време даден абсолютен брой копия в сравнение с проба с по-висока стойност. Колоната „Rep. Conc.“ (Концентрация на повторенията) на прозореца **Comparative Quantitation Results** (Резултати от сравнително количествено определяне) показва относителната концентрация. Относителната концентрация на всяка проба в сравнение с пробата за калибриране се изчислява въз основа на точката на отделяне и ефективността на реакцията. Това е изразено научно.

**Забележка:** Стойността, показана в **Average Amplification** (Средна стойност на усилването) вдясно от  $\pm$ , представлява стандартното отклонение на средното усилване, след премахване на далечните стойности. Ако тази стойност е голяма, може да има сериозна грешка в изчислените концентрации.



Относителните концентрации се изчисляват от софтуера, както следва:

1. Точката на отделяне на всяка проба се изчислява от пиковите на втората производна.
2. Изчислява се средното увеличение на необработените данни 4 цикъла след отделянето. Това е стойността на усилване за пробата.
3. Далечните стойности се изключват като шум на фоновата флуоресценция.
4. Останалите усилвания се осредняват. Това е средното усилване.
5. Средната точка на отделяне се изчислява за всеки репликат на калибратора.
6. Относителната концентрация за пробата се изчислява като Амплификация <sup>^</sup> (Отделяне на калибратора – Отделяне на пробата).
7. Резултатът е представен научно в колона „Rep. Conc.” (Концентрация на повторенията) на прозореца **Comparative Quantitation Results** (Резултати от сравнително количествено определяне).

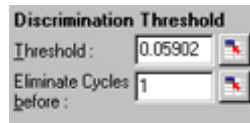
#### 6.6.7 Алелна дискриминация

Алелната дискриминация използва кинетични данни в реално време от два или повече канала за генотипиране. За да извършите анализа, изберете **Other** (Други) и след това **Allelic Discrimination** (Алелна дискриминация) в прозореца **Analysis** (Анализ). При извършване на алелна дискриминация не е достатъчно да кликнете два пъти върху даден канал за анализ, тъй като този анализ използва няколко канала едновременно. За провеждането му или задръжте натиснат бутон CTRL и кликвайте, за да маркирате всеки от каналите за анализ, или плъзнете показалеца на мишката върху тези канали. След като желаните канали са маркирани, кликнете върху **Show** (Показване). Списъкът ще се актуализира, за да покаже всички канали на един ред, с отметка до тях. Това показва, че всички те ще бъдат използвани в един анализ. За да премахнете един или повече от тези канали, кликнете с десния бутон върху анализа и изберете **Remove Analysis...** (Премахване на анализ...). След това тези канали могат да бъдат включени в друга алелна дискриминация. Даден канал може да се използва само в един анализ в даден момент.

<b>Reports</b> (Отчети):	Отваря отчета „Allelic Discrimination Analysis“ (Анализ на алелната дискриминация) за визуализация.
<b>Results</b> (Резултати):	Визуализира прозореца <b>Allelic Discrimination Results</b> (Резултати от алелна дискриминация). Този прозорец се отваря по подразбиране, когато анализът се покаже за първи път.
Normalization options (Опции за нормализирането):	Налице са различни опции за оптимизиране на нормализирането на необработените данни: <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Dynamic Tube</b> (нормализиране на динамична епруветка)</li><li>• <b>Slope Correct</b> (корекция на наклона на шума)</li><li>• <b>Ignore First x cycles</b> (корекция на шума в първоначалните цикли)</li><li>• <b>Takeoff point adjustment</b> (корекция на точката на отделяне)</li></ul> За повече подробности вижте стр. 96.

**Discrimination Threshold**  
(Праг на дискриминация):

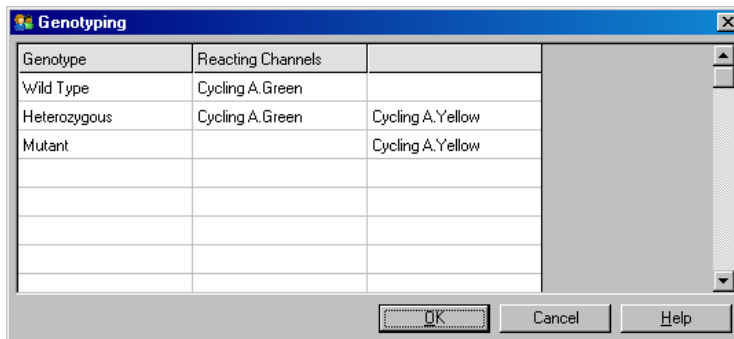
Введете стойности в тези текстови полета, за да позиционирате прага на дискриминация. Всички криви, преминаващи този праг, се считат за генотипиращи проби. Кликнете върху иконата вдясно от всяко текстово поле, след което плъзнете прага на графиката, за да зададете тези стойности визуално.



**Genotypes (Генотипи):**

Отваря прозореца **Genotyping** (Генотипиране), който се използва за определяне на това кой генотип се открива във всеки канал. Този прозорец позволява генотипите да бъдат присвоени към канали за анализ на алелна дискриминация.

В примера по-долу пробата е хетерозиготна, ако стойностите в каналите Cycling A.Green и Cycling A.Yellow преминават прага.



**Allelic analysis templates**  
(Шаблони за алелен анализ):

Шаблоните за алелен анализ позволяват експортиране на настройките за нормализиране, праг и генотипи в един \*.alt файл. Този файл може да бъде импортиран и повторно приложен в други експерименти. Вижте раздел 7.1 за повече подробности.



### 6.6.8 Анализ на диаграмата на разсейване

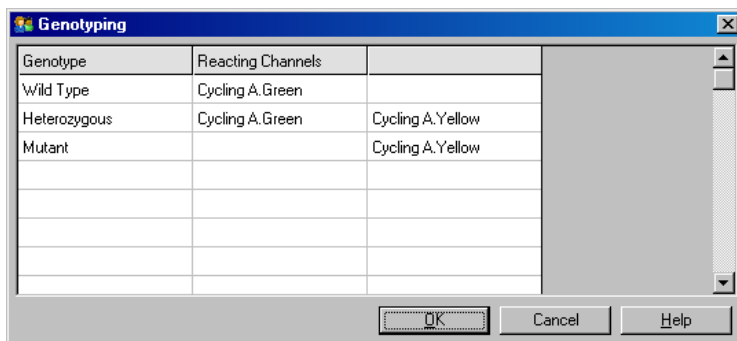
Анализът на диаграмата на разсейване позволява генотипиране въз основа на относителната експресия на графиките за усилване на 2 канала. За разлика от алелната дискриминация, генотипът се определя въз основа на участъци от графиката на разсейване, а не спрямо единичен праг. За да извършите анализа, изберете **Other** (Други) и след това **Scatter Graph Analysis** (Анализът на диаграмата на разсейване) в прозореца **Analysis** (Анализ).

При анализ на диаграмата на разсейване не е достатъчно да кликнете два пъти върху даден канал за анализ, тъй като този анализ използва два канала едновременно. За провеждането му или задръжте натиснат бутна SHIFT и кликвайте, за да маркирате всеки от каналите за анализ, или плъзнете показалеца на мишката върху тези канали. След като желаните канали са маркирани, кликнете върху **Show** (Показване).

Списъкът ще се актуализира, за да покаже всички канали на един ред с отметка до тях. Това показва, че всички те ще бъдат използвани в един анализ. За да премахнете един или повече от тези канали, кликнете с десния бутон върху анализа и изберете **Remove Analysis...** (Премахване на анализ...). След това тези канали могат да бъдат включени в друг анализ на диаграмата на разсейване. Даден канал може да се използва само в един анализ в даден момент.

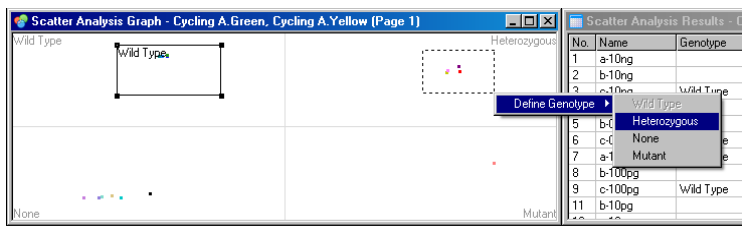
- Reports (Отчети): Отваря отчета **Scatter Analysis** (Анализ на разсейване) за визуализация.
- Results (Резултати): Визуализира прозореца Scatter Analysis Results (Резултати от анализа на разсейване). Този прозорец се отваря по подразбиране, когато анализът се покаже за първи път.
- Normalization options (Опции за нормализирането): Налице са различни опции за оптимизиране на нормализирането на необработените данни:
- **Dynamic Tube** (нормализиране на динамична епруветка)
  - **Slope Correct** (корекция на наклона на шума)
  - **Ignore First x cycles** (корекция на шума в първоначалните цикли)
  - **Takeoff point adjustment** (корекция на точката на отделяне)
- За повече подробности вижте стр. 96.

Genotypes (Генотипи): Отваря прозореца **Genotyping** (Генотипиране), който се използва за определяне на това кой генотип се открива във всеки канал. В този прозорец могат да бъдат присвоени генотипи въз основа на каналите, в които пробата реагира. Избраните канали ще бъдат използвани за отбелязване на ъглите на диаграмата на разсейване и ще насочат потребителя към основните участъци от нея, където трябва да се дефинират региони.



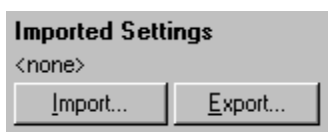
Scatter Graph (Диаграмата на разсейване): Диаграмата на разсейване показва относителната експресия на 2 избрани канала. Изгледът е нормализиран за отчитане на разликите в повишението във всеки канал, а регистърът е трансформиран, за да се подчертаят разликите в експресията между пробите.

За да извърши генотипиране, потребителят дефинира участъци чрез кликане и плъгане върху графиката. След това селекцията може да бъде обозначена въз основа на генотипи, конфигурирани в прозореца **Genotyping** (Генотипиране).



Scatter graph analysis templates (Шаблони за анализ на диаграмата на разсейване):

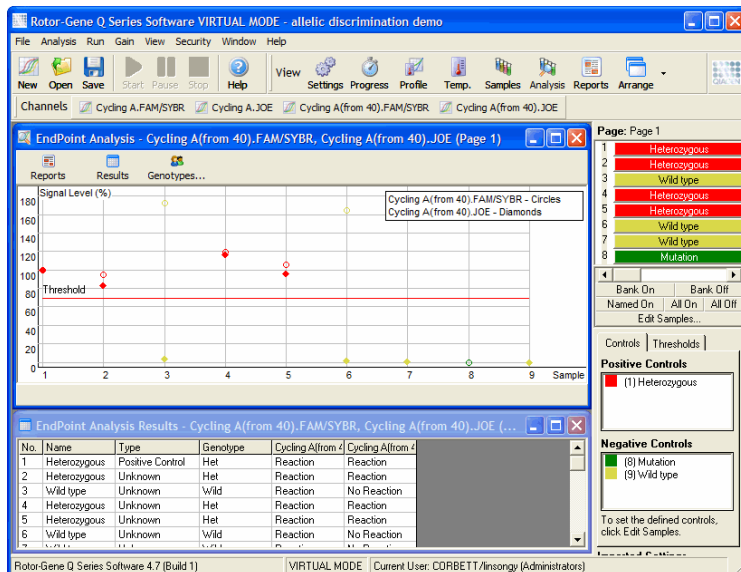
Шаблоните за анализ на диаграмата на разсейване позволяват експортиране на настройките за генотипа и участъка в един общ \*.sct файл. Този файл може да бъде импортиран и повторно приложен в други експерименти. Вижте раздел 7.1 за повече подробности.



### 6.6.9 Анализ на крайната точка

Анализът на крайната точка позволява разграничаване между амплифицирани и неамплифицирани проби в края на даден цикъл. Резултатите са качествени (положителни/отрицателни), а не количествени.

Анализът на крайната точка е показан на екранната снимка по-долу.



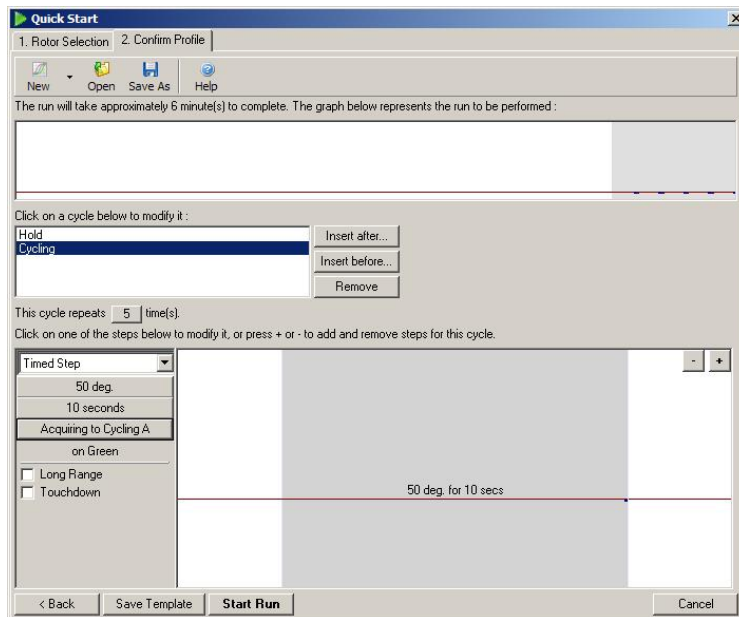
Анализът на крайната точка се доближава до алелната дискриминация по качествените резултати и възможността за задаване на имена на дадени пермутации от реакции в различни канали. При анализа на крайната точка обаче е налично само едно отчитане, за разлика от алелната дискриминация, която използва отчитане цикъл по цикъл за всяка проба. Това означава, че потребителят трябва да посочи положителна и отрицателна контрола, за да улесни анализа. За необработените данни нивата на сигнала се нормализират спрямо известните положителни и отрицателни контроли за всеки канал. След това потребителят избира процентно ниво на сигнала като праг.

### Термини, използвани в анализа на крайната точка

Някои термини, използвани в анализа на крайната точка, са обяснени по-долу.

Positive control (Положителна контрола):	Това е проба, за която е известно, че се амплифицира.
Negative control (Отрицателна контрола):	Това е проба, за която е известно, че не се амплифицира. Тя показва типичния фонов сигнал.
Threshold (Праг):	Прагът е ниво на сигнала, над което се казва, че пробата е положителна (амплифицирана). Тази настройка трябва да се коригира от потребителя за всеки цикъл.
Signal level (Ниво на сигнала):	Процент на флуоресцентния сигнал, нормализиран така, че най-високият сигнал на положителните контроли да е 100%, а най-ниският сигнал на отрицателните контроли да е 0%.
Genotype (Генотип):	Интерпретация на различни реакционни пермутации на различни канали. Например, генотипът „хетерозиготен“ може да бъде отнесен към проби, които са реагирани и в двата канала – зелен и жълт. Генотипът може да се използва и за отчитане на резултатите от реакциите с вътрешни контроли. Например резултатите могат да бъдат докладвани като „inhibited“ (инхибирани), „positive“ (положителни) или „negative“ (отрицателни), в зависимост от наличието или отсъствието на реакция в дадени канали.

## Настройване на профила



За да извършите анализ на крайната точка, създайте профил със задържане при 50°C за няколко минути, а след това цикъл с една стъпка (50°C за 10 сек) с получаване на данните на изследвания канал. Задайте броя на повторенията на 5, както е показано по-горе. Тези времена са само ориентировъчни и могат да варират според случая. Колкото повече са повторенията в профила, толкова повече информация е налична за извършване на анализа. Анализът автоматично ще осредни всички показания до постигането на единична стойност за всяка проба. Не се изисква определен брой повторения. Освен ако не се изисква много високо ниво на точност, обикновено са достатъчни 5 повторения.

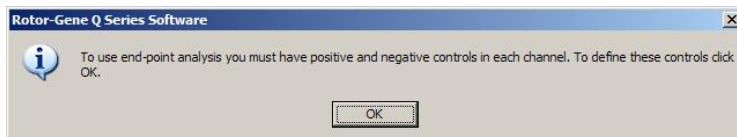
## Анализ

Анализът на крайната точка може да се извършва на няколко канала едновременно. За да създадете нов анализ, кликнете върху раздела **EndPoint** (Крайна точка), изберете каналите, като плъзнете върху тях с показалеца на мишката и след това кликнете върху **Show** (Показване).



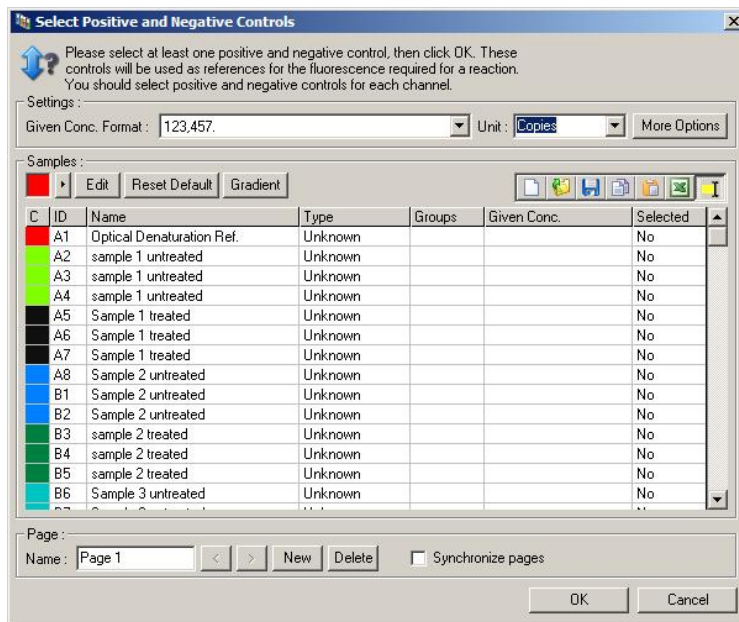
### Дефиниране на контроли

Когато анализът на крайната точка бъде отворен за първи път, ще се покаже следното съобщение, ако не са дефинирани положителна и отрицателна контрола.



Кликнете върху **OK**. Появява се прозорецът **Edit Samples** (Редактиране на проби), позволяващ да се дефинират положителна и отрицателна контрола. За да дефинирате дадена проба като положителна или отрицателна контрола, кликнете върху клетката с типа проба, след което изберете съответния тип контрола от падащото меню.

**Забележка:** Контролите трябва да бъдат със статус „on“ (включени), като използвате превключвателя в дясната страна на основния прозорец, за да извършите анализа.



Този екран функционира по същия начин като прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби) (раздел „Настройка за пробите“).

## Нормализиране

Нормализирането на данните от анализа на крайната точка мащабира всички нива на сигнала в диапазона от 0 – 100%. Необходимо е да са избрани поне една положителна и една отрицателна контрола или повече, ако се анализират няколко канала и стандартите не са мултиплексирани. Необходимо е да са пуснати поне една положителна и една отрицателна контрола, ако съществува риск положителната контрола да не се амплифицира.

1. За всеки канал се анализират всички положителни контроли и тази с най-висока флуоресценция се приема за 100%. Това означава, че при две повторения, положителната контрола може да се провали, без това да се отрази на цикъла.
2. Всички отрицателни контроли се анализират и тази с най-ниското ниво на флуоресценция се приема за 0%.
3. Необработените стойности на флуоресценцията на останалите проби се мащабират спрямо най-високата положителна и най-ниската отрицателна контрола.



Например:

Проба	Тип	Флуоресценция
1	Положителна контрола	53,6
2	Положителна контрола	53,0
3	Отрицателна контрола	4,5
4	Отрицателна контрола	4,3
5	Проба	48,1
6	Проба	6,4

Този цикъл е успешен, тъй като 2 положителни и 2 отрицателни контроли са близки и извън стойностите на флуоресценцията на пробите.

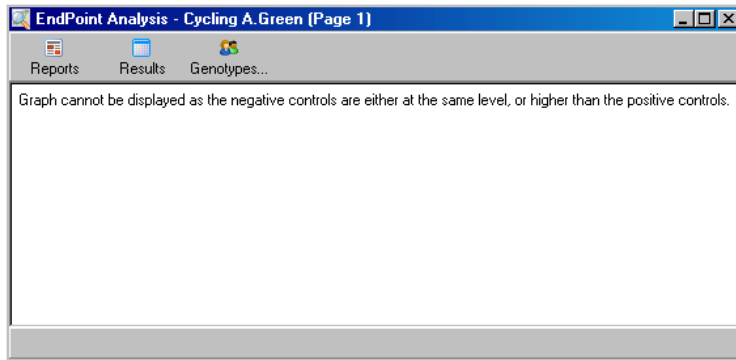
Нормализираните стойности са:

Проба	Тип	Експресия (%)
1	Положителна контрола	100,0
2	Положителна контрола	97,3
3	Отрицателна контрола	0,4
4	Отрицателна контрола	0,0
5	Проба	84,2
6	Проба	4,0

Проба 1 е положителната контрола с най-висока флуоресценция, съответно се приема за 100%. Другата положителна контрола е малко по-ниска. Проба 4 е най-ниската отрицателна контрола и се приема за 0%. Ясно е, че проба 5 най-вероятно се е усилила, докато проба 6 вероятно не се е амплифицирала.

**Забележка:** В зависимост от избраните положителни и отрицателни контроли е възможно да се постигнат нива на експресия над 100% или по-малко от 0%. Резултат над 100% може да индикира по-висока експресия на пробата от тази на положителните контроли. Резултат под 0% означава, че е по-малко вероятно пробата да се амплифицирала, отколкото отрицателните контроли. Поради качествения характер на анализа, тези резултати не предизвикват безпокойство.

Ако отрицателните контроли дават по-висока флуоресценция от положителните, пробите са настроени неправилно и се появява следното съобщение.



### Нормализиране в няколко канала

Възможно е да се анализират данни на сигнали от повече канали, но настройката на пробата е по-сложна. Анализът на крайната точка предполага, че се извършва мултиплексиране, поради което всяка епруветка може да има само една позиция. Понастоящем не е възможно да се анализира разположение, при което позицията на пробата е положителна контрола за един канал и отрицателна за друг.

Нормализирането се извършва независимо за всеки канал, въпреки че в прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби) е дадена само една дефиниция на пробата за всяка позиция на епруветката.

Ако позицията на епруветката е положителна контрола за поне един канал, тя трябва да бъде посочена като положителна контрола в колоната „Type“ (Тип) на прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби). В противен случай неговият тип трябва да бъде **Sample** (Проба). Това важи и за отрицателните контроли.

Например ако пробата е положителна контрола за зеления, но не и за жълтия канал, тя все пак трябва да бъде дефинирана като положителна контрола. Тъй като за всеки канал се взима най-високата положителна контрола, ако има поне една положителна контрола в жълтия канал, която е амплифицирана, дефиницията за контролата в зеления канал се игнорира.

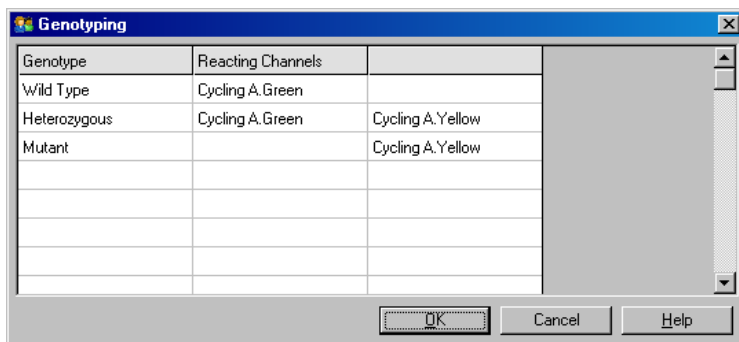
### Праг

Прагът се използва за определяне на процента на експресията, необходим за реакция във всеки канал. След като положителните и отрицателните контроли бъдат определени, всички канали ще бъдат нормализирани до същата скала от 0 – 100%. Поради тази причина е необходим само един праг, дори когато се анализират множество канали.

Кликнете и плъзнете праговата линия до стойност между 0 и 100. Прагът не трябва да е твърде близо до пробите от двете страни на линията, защото това показва, че цикълът не е бил убедителен. Ако разликата между проба, която е определена като усилена или неусилена, е само няколко процента, това означава, че ако реакцията се повтори, пробата може да се появи от другата страна на прага.

## Генотипи

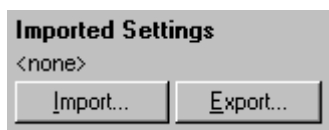
Избирането на опцията отваря прозореца „**Genotyping** (Генотипиране), който се използва за определяне на това кой генотип се открива във всеки канал.



Този прозорец позволява присвояването на генотипи към канали. В примера по-горе пробата е хетерозиготна, ако показанията в каналите Cycling A.Green и Cycling A.Yellow преминават прага.

## Шаблони за анализ на крайната точка

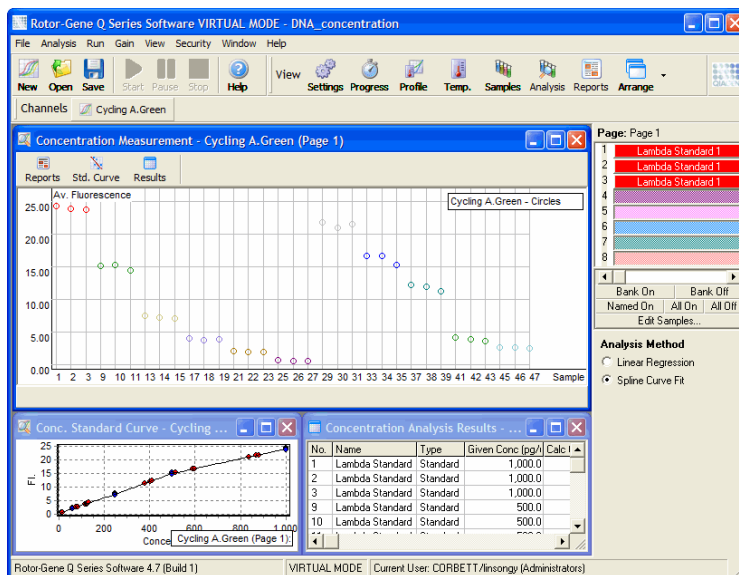
Шаблоните за анализ на крайната точка позволяват на потребителя да експортира настройките за генотипи и прагове в един \*.ent файл. Този файл може да бъде импортиран и повторно приложен в други експерименти. Вижте раздел 8.1 за повече подробности.



### 6.6.10 Анализ на концентрацията

Анализът на концентрацията позволява Rotor-Gene Q MDx да се използва за измерването на концентрации на ДНК или за получаване на показания на флуорометъра.

Екранната снимка по-долу показва този анализ.



### Подготвяне на цикъл

За да извършите анализ на концентрацията, първо подгответе флуоресцентни стандарти и проби, в идеалния случай в три екземпляра.

### Подготовка на стандартите

За определяне на концентрацията на ДНК от всяка измерена проба се използва стандартна крива.

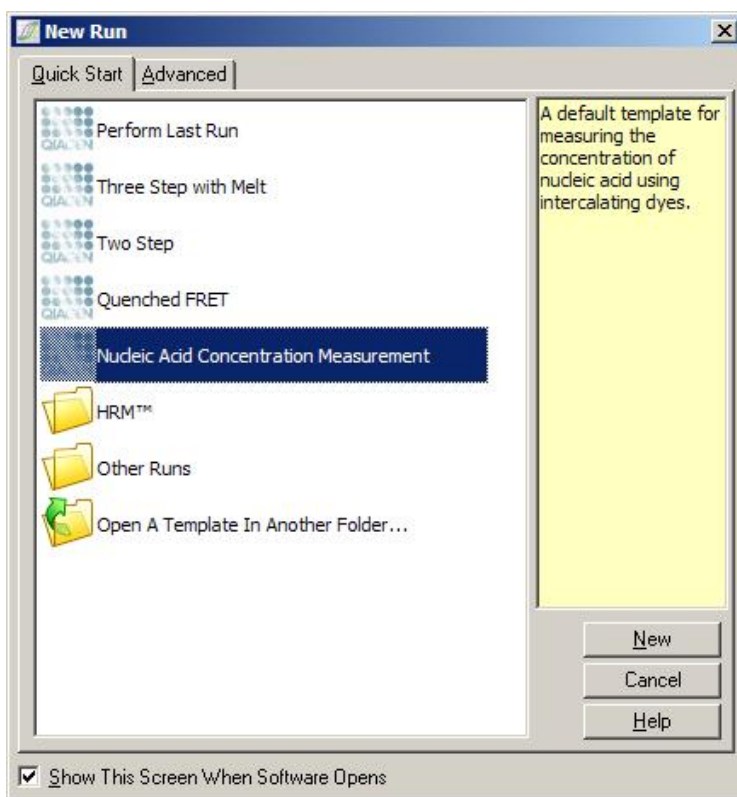
Типът на ДНК, използван за стандартната крива, трябва да е същия като в пробите, които се измерват. Концентрацията на поне една ДНК проба трябва да се определи с помощта на ултравиолетова спектрофотометрия и тази проба трябва да се използва като стандарт. Трябва да се използват минимум 3 стандарта (с повторения). Важно е, че ДНК стандартите, използвани при отчитане на флуоресценцията, трябва да са само линейни и в диапазона от 1 – 100 pg/μl. В този диапазон, ако концентрацията на ДНК е намалена наполовина, това ще важи и за флуоресценцията. Доверителните интервали за всяка концентрация извън този диапазон са много широки поради нелинейността на използваните химични вещества.

## Тип на измерената ДНК

При измерването на разнообразни форми на ДНК (напр. геномна в сравнение с плазмидна) се наблюдават разлики. Ето защо в случай на едновременно изследване е необходимо да се използват само подобни типове ДНК, а употребата на плазмидна ДНК като стандарт при измерване на геномна ДНК трябва да се избягва.

## Настройки на цикъла

За да настроите цикъла, изберете **Nucleic Acid Concentration Measurement** (Измерване на концентрацията на нуклеинова киселина) от съветника за бързо стартиране.



**Забележка:** Уверете се, че в позиция 1 има положителна контрола като стандарт с висока концентрация. Без положителна контрола софтуерът няма да може да оптимизира настройките на усилването за максимална чувствителност. Ще бъдете подканвани за това преди всеки цикъл.

## Анализ

Анализът на концентрацията работи чрез свързване на нивото на флуоресценция със стойността на концентрацията. Налични се два модела за анализ. Оптималният анализ зависи от химичните вещества и приложението.

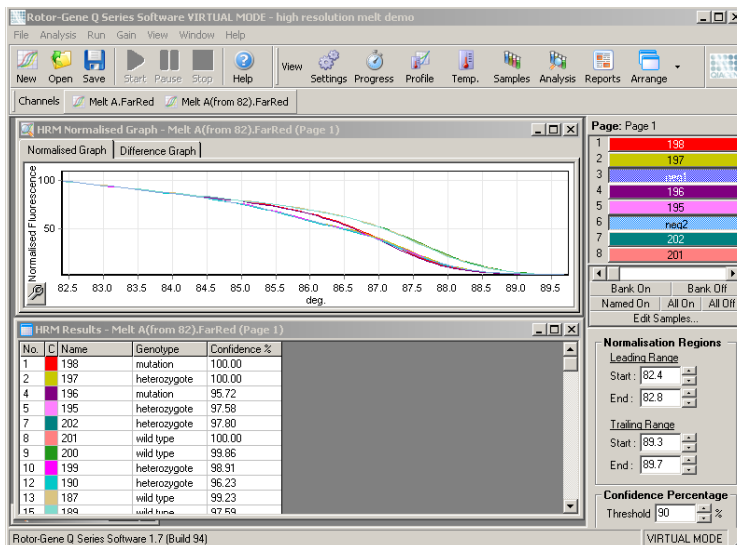
„Linear Regression“ (Линейна регресия) анализира данни чрез допускане на линейна връзка изчисляване на неизвестните на базата на линейния модел. Той определя грешката при измерване чрез изследване на отклонението на показанията от линейния модел. Ако показанията на концентрацията са линейни, това е най-подходящият анализ, тъй като предоставя на потребителя статистически анализ на вариацията (ANOVA).

„Spline Curve Fit“ (Напасване на сплайн криви) предполага само, че стойностите на концентрацията се увеличават с флуоресценцията. Въпреки че този подход прави оценките на нелинейните данни по-точни, той не може да осигури ANOVA, тъй като не допуска линеен модел.

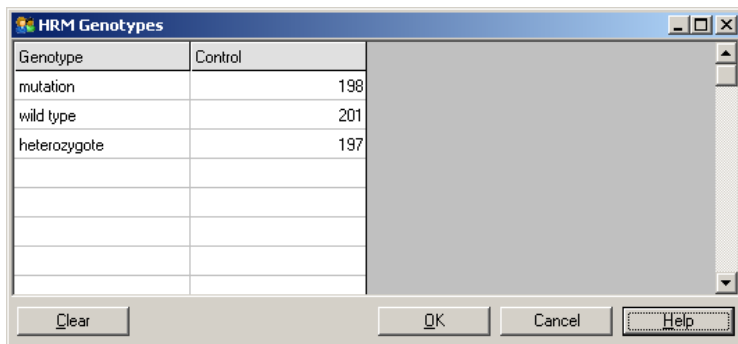
### 6.6.11 Анализ на топене с висока разделителна способност

Анализът на топене с висока разделителна способност (HRM) характеризира пробите въз основа на дължината на последователността, съдържанието на GC и комплементарността. HRM анализът се използва в приложения за генотипиране като анализ на генни мутации или единични нуклеотидни полиморфизми (SNP) и в приложения за анализ на състоянието на метилиране на ДНК. HRM анализът осигурява точни резултати и спестява разходите за сонда и етикети в сравнение с други методи.

За да извършите анализа, изберете **Other** (Други) и след това **High Resolution Melt Analysis** (Анализ на топене с висока разделителна способност) в прозореца **Analysis** (Анализ). Кликнете два пъти върху желанния канал. Кривите на топене на канала с необработени данни се нормализират чрез осредняване на всички начални и крайни стойности на флуоресценция, след което привеждат крайните точки на всяка проба към средните стойности.



Автоматичното генериране на проби се извършва чрез кликуване върху **Genotypes** (Генотипи). Въведете името на генотипа, последвано от номера на пробата, който се използва като положителна контрола за автоматично генериране на непознати проби.



За по-подробна информация относно HRM анализа вижте раздел 10.

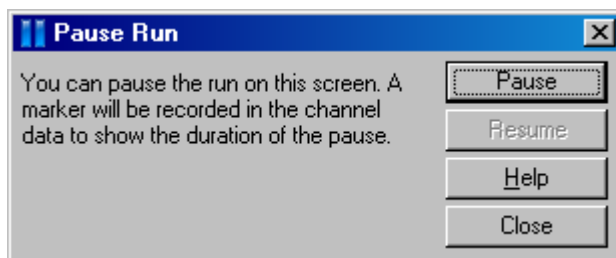
## 6.7 Меню „Цикъл“


### 6.7.1 Стартиране на цикъл

Тази опция стартира определения температурен профил с текущите настройки на усилването. Преди да започне цикъла, се появява прозорецът **Profile Run Confirmation** (Потвърждение на профила на цикъл). Показва се графично представяне на температурния профил заедно с настройките на усилването за всеки канал.

## 6.7.2 Поставяне на цикъл на пауза

Тази опция дава възможност за поставяне на пауза и възобновяване на цикъла. Поставянето на пауза и възобновяването могат сериозно да повлияят на резултатите от цикъла. Поради тази причина се визуализира маркер, който показва, че цикълът е бил поставен на пауза, както и продължителността на паузата. Появява се също съобщение в раздела за съобщения на прозореца **Run Settings** (Настройки за цикъла) (вижте раздел 6.8.1).



<p><b>ПРЕДУПРЕЖ- ДЕНИЕ</b></p> 	<p><b>Горещи повърхности</b></p> <p>При поставяне на даден цикъл на пауза, Rotor-Gene Q MDx няма да се охлади напълно до стайна температура. Бъдете внимателни, преди да боравите с ротора или епруветките в апарата.</p>
--	---

## 6.7.3 Спиране на цикъл

Ако е избрана тази опция, ще се появи подкана с молба за потвърждение, че цикълът трябва да бъде спрял.

## 6.8 Меню „Преглед“

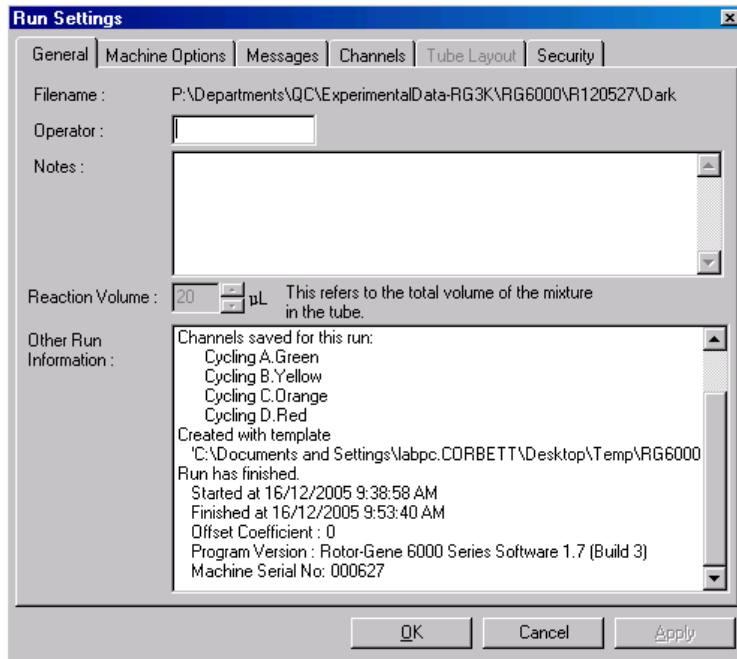
### 6.8.1 Настройки за цикъла

#### Общи

Този прозорец позволява настройка на данните за цикъла, име на файл на цикъла, дата на анализа, оператор и всички свързани бележки.

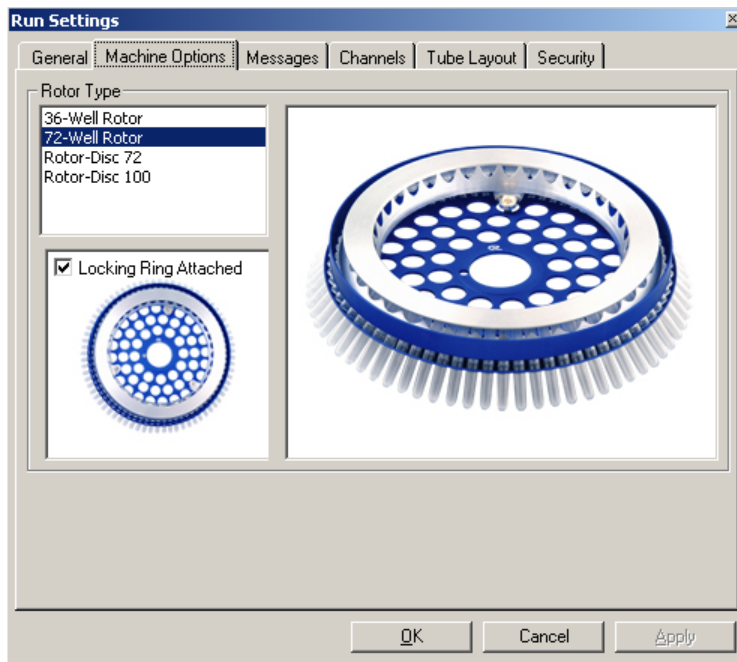
Прозорецът съдържа цялата информация, с изключение на профила, необходима за конфигуриране на цикъла. След като цикълът приключи, в този прозорец се показва следната информация: използван циклер, настройки за усилване, брой канали и час на начало и край.





## Опции на апарата

Този раздел показва настройките за конфигурацията на Rotor-Gene Q MDx.



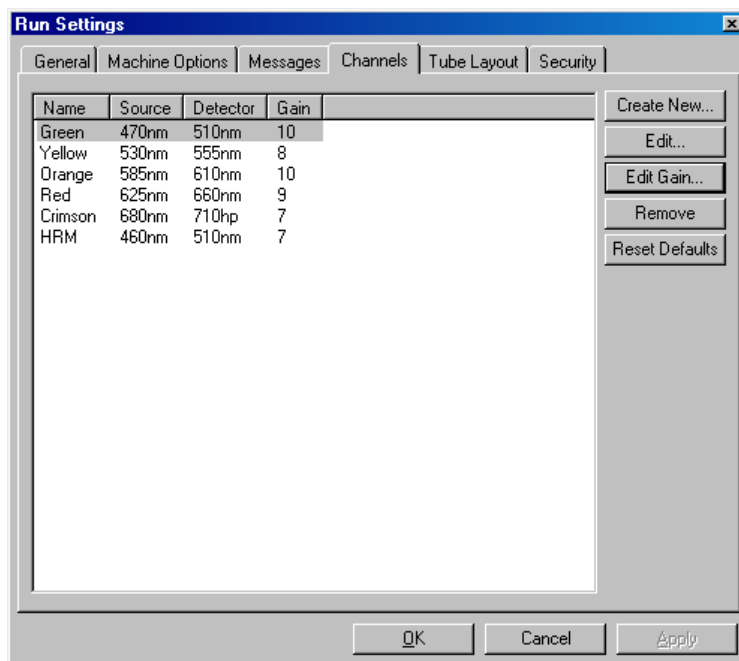
Роторът трябва да бъде настроен на този, който понастоящем е инсталиран в апарата Rotor-Gene Q MDx. Ако отворите съществуващ цикъл, тази настройка ще отразява ротора, който е бил инсталиран в циклера по време на извършването на цикъла.

## Съобщения

Този раздел визуализира съобщения, показващи дали потребителят е направил промени, като например поставяне на пауза на цикъла или пропускане на етапи от цикъла. Той също така показва предупреждения, получени по време на цикъла. Този раздел трябва да бъде проверен, ако резултатите не отговарят на очакванията.

## Канали

Ако конфигурирате нов цикъл, разделът за каналите показва текущата конфигурация на наличните канали. Ако прегледате съществуващ цикъл, показаната информация представлява конфигурацията на каналите в момента, когато е извършен цикълът. Ако цикълът повреди настройките на канала, каналите по подразбиране могат да бъдат възстановени, като кликнете върху **Reset Defaults** (Нулиране на настройките по подразбиране).



<b>Name</b> (Име):	Името на канала.
<b>Source</b> (Източник):	Определя дължината на вълната на възбуждане на LED източника на светлина.
<b>Detector</b> (Детектор):	Определя дължината на вълната на откриване и типа на филтъра (nm = band pass, hp = high pass).
<b>Gain</b> (Усилване):	Определя усилването за конкретния канал.
<b>Create New...</b> (Създаване на нов...):	Тази функция позволява създаването на нови канали. Кликването върху <b>Create New...</b> (Създаване на нов...) отваря прозорец, който иска въвеждането на ново име, източник и филтър за откриване. Филтрите могат да бъдат избрани от падащото меню до всеки прозорец.
<b>Channels</b> (Канали):	Зелените, жълтите, оранжевите и червените канали са стандартни конфигурации за 4-канално мултиплексно откриване.

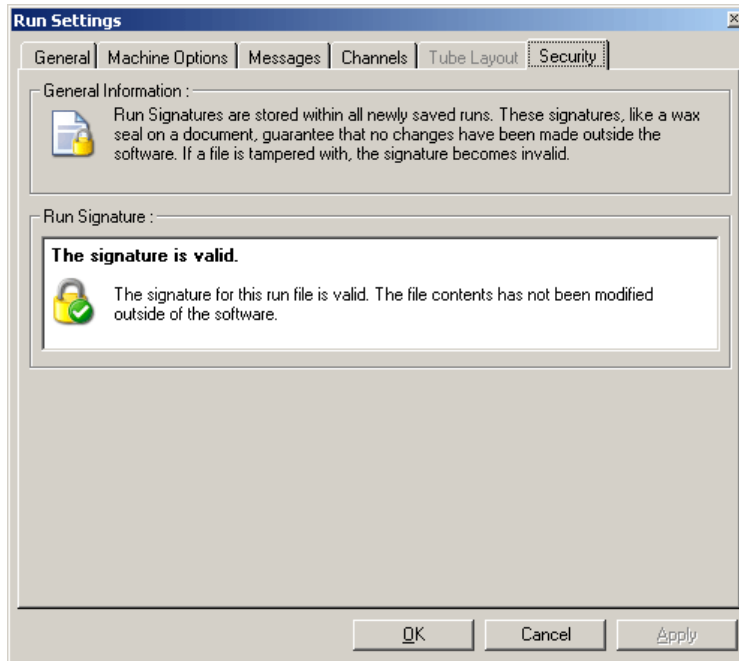
## Разположение на епруветките

Ако използвате 72-Well Rotor, пробите могат да бъдат подредени така, че да съответстват на етикетирането на блок 9 x 8. По подразбиране разделът за разположение на епруветките позволява на пробите да бъдат етикетирани последователно (т.е. 1, 2, 3...). Това означава, че пробите се наименоуват последователно в реда на поставяне в Rotor-Gene Q MDx. Друг начин за етиктиране може да бъде 1A, 1B, 1C и т.н. Тази опция може да бъде полезна, ако пробите се накапват с помощта на многоканална пипета.

## Сигурност

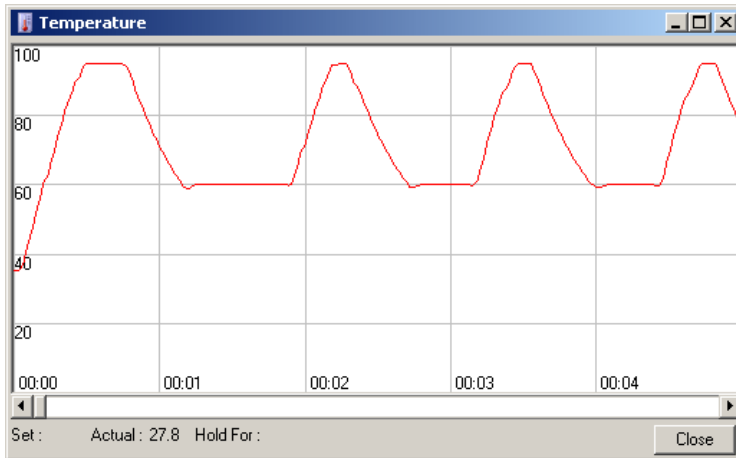
Разделът за сигурност показва информация за сигнатурата на цикъла. Сигнатурата на цикъла е необратим ключ, който се регенерира всеки път, когато файлът се промени. Ако някоя секция от \*.rex файла бъде променена извън софтуера, сигнатурата и файлът вече няма да съвпадат. Проверката на сигнатурата позволява потвърждение, че необработените данни не са променени извън приложението, че профилът не е бил променян и че температурната графика е валидна. Сигнатурата също така предпазва от повреди, като например грешки във файловата система.

**Забележка:** Ако изпращате \*.rex файлове по имейл, процесът на криптиране може да наруши сигнатурата. За да избегнете това, архивирайте файла, преди да го изпратите.



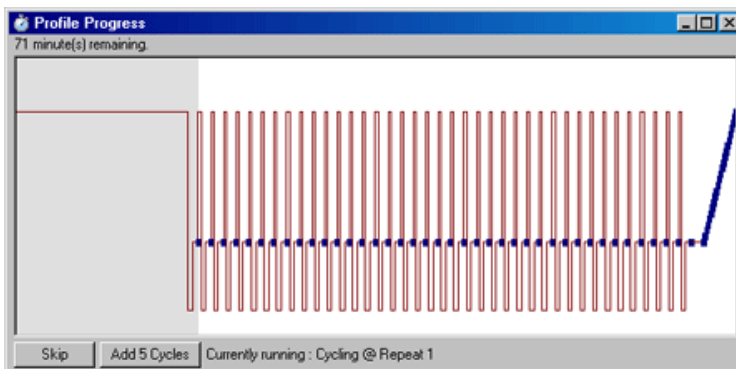
## 6.8.2 Температурна графика

Изберете **Temperature Graph** (Температурна графика) от менюто View (Преглед) или кликнете върху бутона **Temp.** (Темп.), за да изведете прозореца **Temperature** (Температура). Графиката показва зададените температури по време на циклизирането. Тя не отразява температурни изменения в реално време. С напредването на цикъла се визуализират времената **Set** (Зададено време), **Actual** (Действително време) и **Hold** (Време на задържане) за всяка стъпка от програмата. За съществуващ run файл, прозорецът **Temperature** (Температура) визуализира хронологията за температурата по време на цикъла. Вертикалната скала показва температурата, а хоризонталната – часа. Използвайте лентата за превъртане, за да превъртате назад и напред в прозореца **Temperature** (Температура).



### 6.8.3 Напредък на профила

Изберете **Profile Progress** (Напредък на профила) от менюто **View** (Преглед) или кликнете върху бутона **Progress** (Напредък), за да изведете прозореца **Profile Progress** (Напредък на профила). Този прозорец представя графично температурния профил на цикъла. По време на цикъла, затъмнената част на прозореца показва броя на завършените цикли. Има и показание за приблизителното оставащо време до края на цикъла.



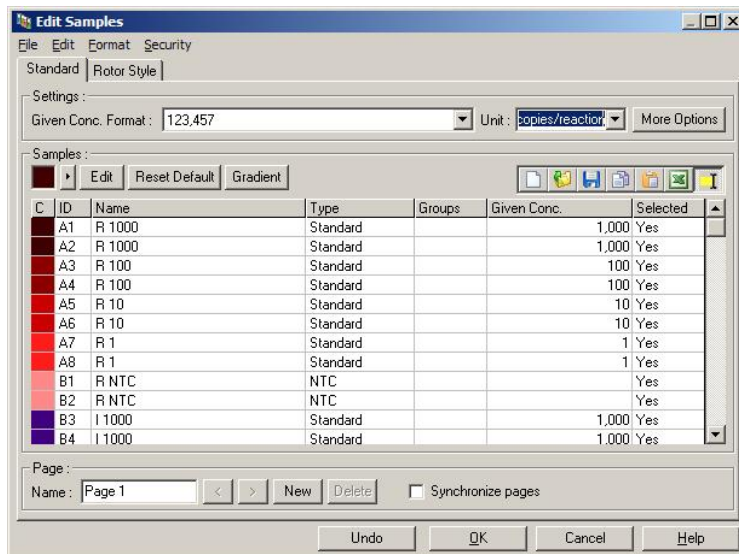
**Skip** (Пропускане):

**Skip** (Пропускане) позволява прескачането на стъпки от профила.

**Add 5 Cycles** (Добавяне на 5 цикъла):

**Add 5 Cycles** (Добавяне на 5 цикъла) добавя 5 повторения към текущата стъпка на циклизиране.

## 6.8.4 Редактиране на проби



Кликнете върху бутона **Samples** (Проби), за да изведете прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби). Прозорецът **Edit Samples** (Редактиране на проби) може да бъде достъпен и чрез кликане върху десния бутон върху списъка с проби вдясно на екрана. Този прозорец има идентична функционалност с прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби) в съветниците, с изключение на това, че функциите на лентата с инструменти са налични и в менютата **File** (Файл) и **Edit** (Редактиране).

В горната част на прозореца се появяват четири менюта: **File** (Файл), **Edit** (Редактиране), **Format** (Форматиране) и **Security** (Сигурност). Менюто **File** (Файл) се използва за създаване на нов (празен) прозорец **Edit Samples** (Редактиране на проби), за отваряне на съществуващ примерен шаблон или за запазване на имена на проби като шаблон за бъдеща употреба. Разширението на тези шаблонни файлове е **\*.smp**. Менюто **Edit** (Редактиране) позволява копиране и поставяне на редове. Менюто **Security** (Сигурност) позволява заключването на дефинициите на пробата.

**Забележка:** Ако имената на пробите се въвеждат твърде бързо по време на цикъла (напр. с помощта на баркод скенер), това може да доведе до транспонирани букви в имената на пробите. Поради това се препоръчва да избягвате използването на баркод скенер, ако е приложимо, въведете имената на пробите, след като цикълът приключи.



Това падащо меню се използва за избор на подходящ формат за показване на концентрацията. Концентрациите се форматира автоматично според текущо избраното местоположение.



Това падащо меню задава мерните единици за анализа.

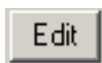


## Бутон

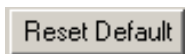
## Значение

Line style (Стил на реда):

Стилът на реда може да бъде променен, за да се подобри четимостта на графиките на черно-бели принтери. Някои ридове могат да се подчертават. За достъп до тази функция, кликнете върху бутона с дясна стрелка до бутона **Edit** (Редактиране).



Натискането на „**Edit**“ (Редактиране) отваря селектора за цвят. Когато се задава цвят на епруветките може да бъдат избрани няколко реда.



Кликнете върху „**Reset Default**“ (Нулиране на настройката по подразбиране), за да нулирате избора на цвета на всички избрани клетки обратно към техните стойности по подразбиране.



„**Gradient**“ (Градиент) позволява избора на градиент от първия до последния избран цвят. При подготовката на пробите могат да се използват няколко градиента.



Иконата **New** (Нов) изчиства прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби) и го подготвя за въвеждане на данни.



Иконата **Open** (Отваряне) извежда диалогов прозорец, където може да бъде избран файл от Rotor-Gene Q MDx за импортиране.

**Забележка:** Броят на пробите в отворения прозорец и импортираният файл трябва да съвпадат.



Иконата **Save** (Запазване) извежда диалогов прозорец, в който могат да бъдат въведени името и папката, в която ще бъде запазено копие на текущите дефиниции на пробата.



Иконата **Copy** (Копиране) копира избраните клетки.



Иконата **Paste** (Поставяне) поставя клетки, които са били избрани с командата за копиране, в понастоящем избраната позиция в мрежата.



Иконата на **Excel** извежда диалогов прозорец, който подканва за въвеждане на име на файла и избор на папката, в която да запишете информацията за пробата. След натискане на **Save** (Запазване), Excel файлът се отваря автоматично.



Иконата **Append/Overwrite** (Добавяне/Презаписване) променя редактирането на клетки в прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби). Ако е избрано презаписване, съществуващите данни се презаписват в случай на редакция. Ако е избрано добавяне, при редактирането новите данни се добавят към съществуващите.

Sample Types (Типове проби):

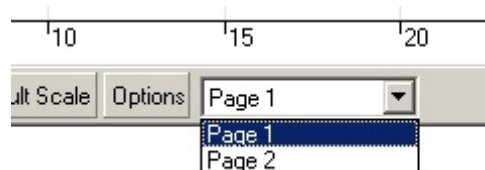
Пробите могат да се дефинират с един от няколко вида, изброени в долната таблица.

Тип на пробата	Описание
None (Няма)	Няма проба в тази позиция
NTC (Контрол без шаблон)	Контрол без шаблон
Negative Control (Отрицателна контрола)	Отрицателна контрола
Positive Control (Положителна контрола)	Положителна контрола
Unknown (Неизвестна)	Неизвестна проба за анализ
Standard (Стандарт)	Стандартните стойности се използват за построяване на стандартна крива за изчисляване на неизвестни концентрации на пробата
Calibrator (RQ) (Калибратор)	На калибратора се присвоява стойност 1 и всички останали концентрации на пробата се изчисляват спрямо тази проба

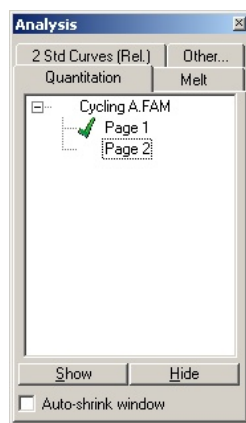
Page (Страница):

Тази функция позволява на потребителя да разполага с различни дефиниции на проби, както и отделни експерименти в рамките на един цикъл. Тя е полезна при анализа на различни продукти в различни канали. Използвайте бутоните със стрелки, за да се придвижвате между страниците с проби. Използвайте бутоните **New** (Нов) и **Delete** (Изтриване), за да създавате и изтривате страници. Възможно е да разполагате с различни дефиниции на проби за един и същ канал за създаване на множество стандартни криви без мултиплексиране. Просто дефинирайте желаните проби и свързаните с тях стандартни криви на отделни страници. Отделният канал след това може да се анализира независимо с всеки набор от дефиниции. Примерните страници могат да бъдат етикетирани като **Page 1** (стр. 1), **Page 2** (стр. 2) и т.н., или могат да получат произволно име (напр. „Конститутивен“). Това име ще се визуализира в отчетите.

При преглед на необработените данни, примерните дефиниции, използвани за визуализиране на данните, могат да бъдат избрани с помощта на падащото меню до бутона **Options** (Опции):



Използваната страница с проби по време на анализ може да се избере в прозореца **Analysis** (Анализ) (вижте раздел 6.6.1).





Given Conc. (Дадена концентрация):

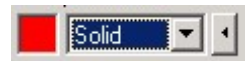
Показва концентрацията за всеки от стандартите. Единиците могат да се определят като десетични или логаритмични. Ако стандартите са серия от разреждания, е необходимо да се въведат само първите 2 стандарта. Чрез натискането на ENTER програмата автоматично добавя следващото логическо разреждане в поредицата.

Line style (Стил на реда):

Стильт на реда може да бъде променен, за да се подобри четимостта на графиките на черно-бели принтери. Някои ридове могат да се подчертават. За достъп до тази функция, кликнете върху бутона с дясна стрелка до бутона **Edit** (Редактиране).



Лентата с инструменти ще визуализира стила по подразбиране **Solid** (Свети постоянно). Това може да бъде променено на **Dashed** (Пунктиран), **Dotted** (На точки), **Hairline** (С тънки граници), **Thin** (Тънък) или **Thick** (Дебел). Когато приключите, кликнете върху бутона със стрелка наляво, за да се върнете към изгледа Edit (Редактиране), Reset Default (Нулиране на настройката по подразбиране) и Gradient (Градиент).



Multiple row entry (Едновременно въвеждане в няколко реда):

В случай че една и съща информация трябва да бъде въведена в няколко реда едновременно, изберете всички редове, след което започнете да пишете. Информацията ще бъде въведена във всеки ред. Тази функция работи също за избор на типа проба, избор на цвета или въвеждане на концентрацията.

Sample type hotkey (Бърз клавиш за избор на типа проба):

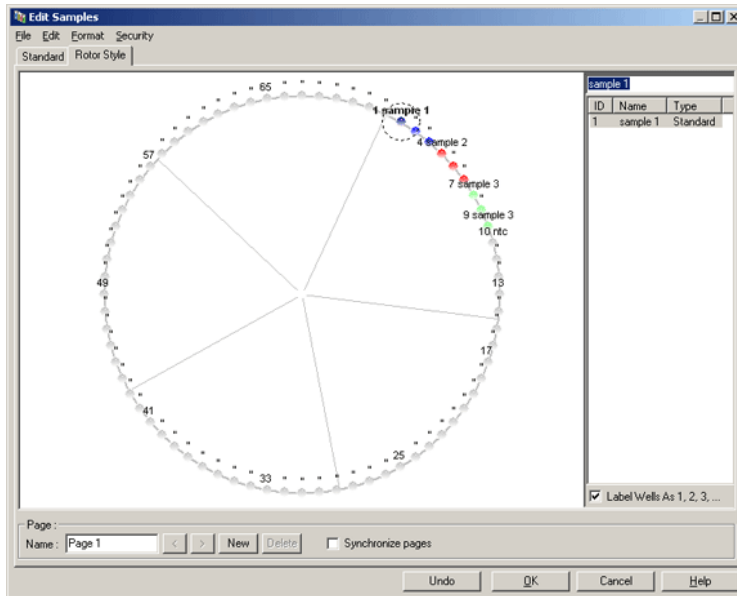
За да изберете бързо типа проба, въведете първата буква от името му. Например, за да зададете 5 проби за контроли без шаблони, изберете ги в колоната за типа проба, след което натиснете N за NTC. Всички проби ще бъдат настроени като NTC.

Save it, reuse it (Запазване за повторно използване):

Пълното описание на пробата може да бъде запазено като файл на проба (\*.smp) и заредено за бъдещи цикли със същата конфигурация на пробата.

## Стил на ротора

Този раздел в прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби) предоставя алтернативен начин за въвеждане на имената на пробите. Изберете повторения, като кликнете и плъзнете показалеца на мишката върху изображението на ротора. Списъкът вдясно на прозореца ще се актуализира. Името на пробата може да бъде въведено и това ще зададе същото име за текущата селекция. Софтуерът разпознава тези ямки като повторения.

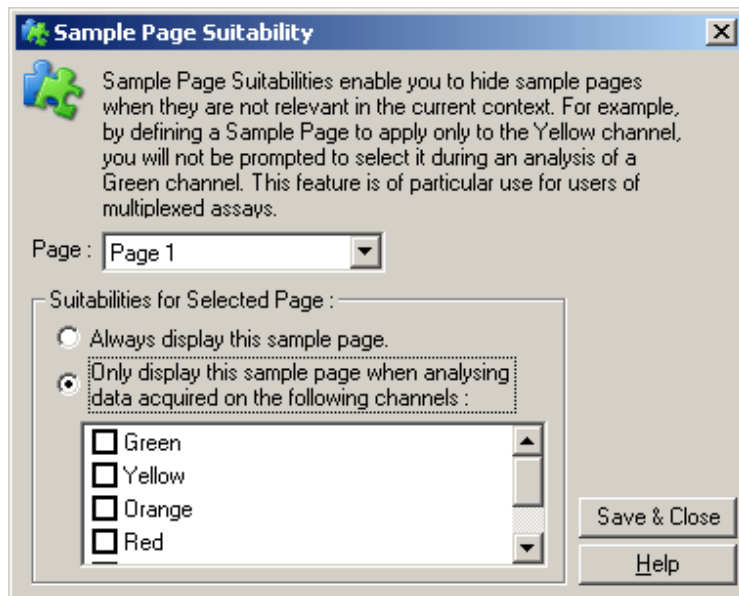


Разделът **Rotor Style** (Стил на ротора) представлява умалена версия на раздела **Standard** (Стандарт) и е предназначен за потребители, които искат бързо да настройат имената и цветовете на проби. В този раздел не е възможно да се дефинират някои настройки, като например дали пробата представлява стандарт или известната концентрация на всеки стандарт. За тази цел е необходимо да използвате стандартния раздел.

### Пригодност на страниците с проби

За да получите достъп до прозореца **Sample Page Suitability** (Пригодност на страниците с проби), кликнете върху **More Options** (Още опции) в прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби) и след това кликнете върху **Define Suitabilities** (Дефиниране на пригодности). Прозорецът **Sample Page Suitability** (Пригодност на страниците с проби) позволява на потребителите да свързват страници проби към канали. Например страницата с проби за изследвания ген може да се отнася за зеления канал, а страницата с проби за конститутивния ген може да се отнася за жълтия канал. В този пример настройката за пригодност на страницата с проби намалява броя на наличните опции за анализ, за да включва само тези, които са подходящи за конкретния анализ.

Прозорецът **Sample Page Suitability** (Пригодност на страниците с проби) е показан по-долу.

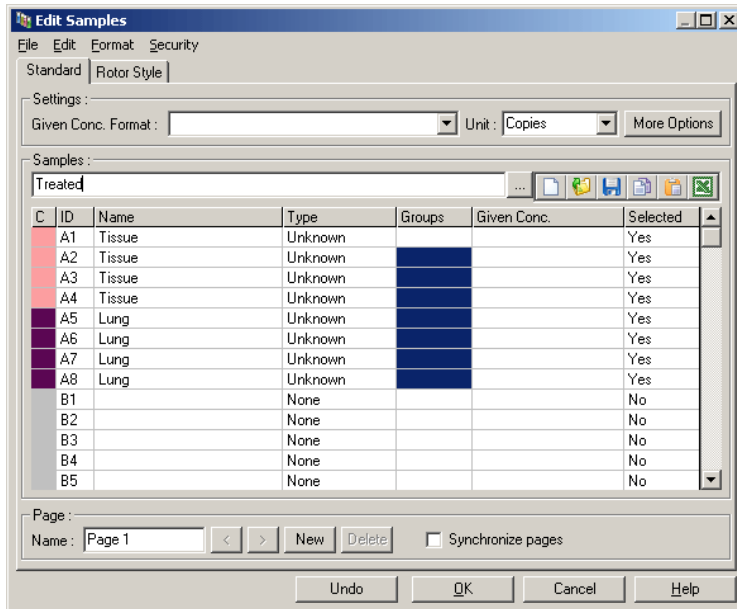


**Забележка:** Когато настройвате анализ, създайте всички страници на проби и пригодности на страници за проби, след което ги запазете като шаблон. Това намалява необходимото количество настройка за всеки цикъл.

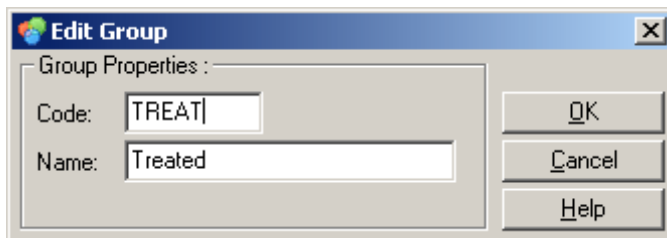
## Групи

Групите от проби позволяват да се изчисляват статистически данни за произволна колекция от проби. За разлика от повторенията, които трябва да имат идентични имена, пробите могат да имат произволно име, могат да бъдат позиционирани навсякъде в ротора и да принадлежат към няколко групи.

1. За да дефинирате група, въведете пълното име на групата до дадена проба и след това натиснете ENTER.



2. Появява се прозорецът **Edit Group** (Редактиране на група).

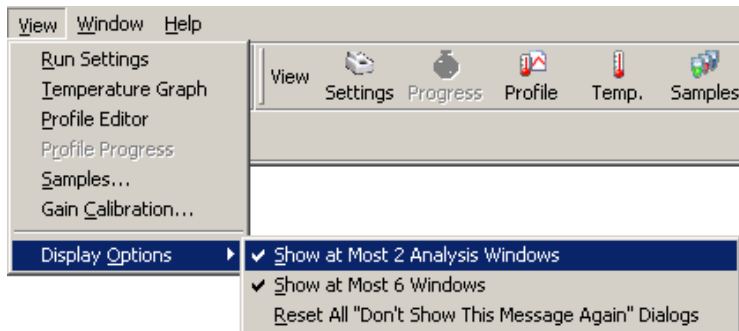


3. Определете подходящо съкращение, след което кликнете върху **OK**. Съкращението вече може да се използва за настройване на групи. Обобщените резултати, като средна стойност и 95% доверителни интервали, се изчисляват автоматично за дадената група във всеки анализ.

No.	Name	Type	Ct	Given Conc (Cop)	Calc Conc (Copie)	% Var	Rep. Ct	Rep. Ct Stc	Rep. Ct (95% CI)	Rep.
A1	Tissue	Unknown	18.82				18.75	0.17	[18.48, 19.02]	
A2	Tissue	Unknown	18.75							
A3	Tissue	Unknown	18.92							
A4	Tissue	Unknown	18.52							
A5	Lung	Unknown	18.73				18.70	0.09	[18.55, 18.85]	
A6	Lung	Unknown	18.62							
A7	Lung	Unknown	18.81							
A8	Lung	Unknown	18.63							
A1-A8	Treated	Group					18.72	0.13	[18.62, 18.83]	

## 6.8.5 Опции на дисплея

Менюто с опции на дисплея е показано по-долу.



**Show at Most 2 Analysis Windows**  
(Показване на до два прозореца за анализ):

Ако тази опция е отметната, ще се показват до два прозореца за анализ наведнъж. Ако отворените прозорци са повече, може да се наруши четливостта. Отметката на тази опция затваря първия прозорец за анализ и го заменя с последния отворен прозорец. Ако опцията не е отметната, могат да се показват над два прозореца за анализ.

**Show at Most 6 Windows**  
(Показване на до шест прозореца):

За да подобри четливостта, софтуерът премахва неизползваните прозорци при отваряне на нови прозорци. Тази опция е активирана по подразбиране, тъй като поддържа екрана на софтуера Rotor Gene Q чист. Ако е необходимо да видите повече от шест прозореца наведнъж, премахнете отметката от тази опция.

**Reset All "Don't Show This Message Again" Dialogs**  
(Нулиране на всички диалогови прозорци „Не показвай това съобщение отново“):

Ако е избрана опцията, софтуерът ще покаже отново всички диалогови прозорци, където е поставена отметка в квадратчето **Do not display this message again** (Не показвай това съобщение отново). Те включват съобщения за подозрителни настройки, които преди това може да са били настроени да не се показват отново. Това може да е полезно за нов потребител, който не е запознат с Rotor-Gene Q MDx или софтуера Rotor-Gene Q.

## 6.9 Защита на достъпа до софтуера Rotor-Gene Q

**Забележка:** Тази глава описва защитата на достъпа до софтуера Rotor-Gene Q. Вижте *Ръководството за потребителя на Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application* или *Ръководството за потребителя на Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application* информация относно съответния софтуер Rotor-Gene AssayManager.

Софтуерът Rotor-Gene Q включва функции, които позволяват безопасното му функциониране. Когато е правилно конфигуриран, софтуерът Rotor-Gene Q може да гарантира следното:

- достъпът до Rotor-Gene Q MDx или софтуера за анализ е ограничен до потребителските групи;
- промените в гup файловете се регистрират;
- откриване на неотризиранни модификации (сигнатури);
- шаблоните, използвани за циклите, се записват;
- имената на пробите са защитени.

## Интеграция със сигурността на Windows

С цел високото ниво на проследимост, софтуерът Rotor-Gene Q не управлява сигурността вътрешно. Всички профили, групи и пароли се управляват с помощта на вградения в Windows модел за сигурност (Windows Security). Интеграцията позволява паролата, която осигурява достъп до мрежови файлове и програми, да контролира достъпа до софтуера на Rotor-Gene Q, което води до по-малко администриране. В по-големите организации, например, мрежовите администратори могат лесно да прекратят достъпа до бивши потребители благодарение на централизирания модел за сигурност.

Поради тази причина сигурното настройване на софтуера Rotor-Gene Q включва предимно конфигуриране на ролите за сигурност на Windows в съответствие с най-добрите практики.

### Предпоставки

За да използвате сигурността, трябва да използвате Windows 10 или Windows 7 Professional edition. Функциите за сигурност не могат да се използват с Windows 10 или Windows 7 Home edition, тъй като изданията Home editions не притежава прецизирания модел на достъп, използван от софтуера. Софтуерът трябва да бъде инсталиран с опцията **Force authentication through Windows domain** (Принудително удостоверяване през домейн на Windows).

**Забележка:** Менюто Security (Сигурност) няма да се появи, ако сте влезли в домейн на Linux Samba. Трябва да използвате локална връзка или сървър на Windows, за да използвате функциите за сигурност.

#### 6.9.1 Конфигурация за Windows 7

Този раздел описва как да се настрои системата така, че софтуерът Rotor-Gene Q да работи сигурно.

За да използвате функциите за сигурност, софтуерът трябва да бъде инсталиран с опцията **Force authentication through Windows domain** (Задължителна автентификация чрез домейн на Windows). Това подготвя домейна на Windows за вашето ниво на достъп и идентификационни данни и е от съществено значение за предоставяне на функциите за отчетност и сигурност.

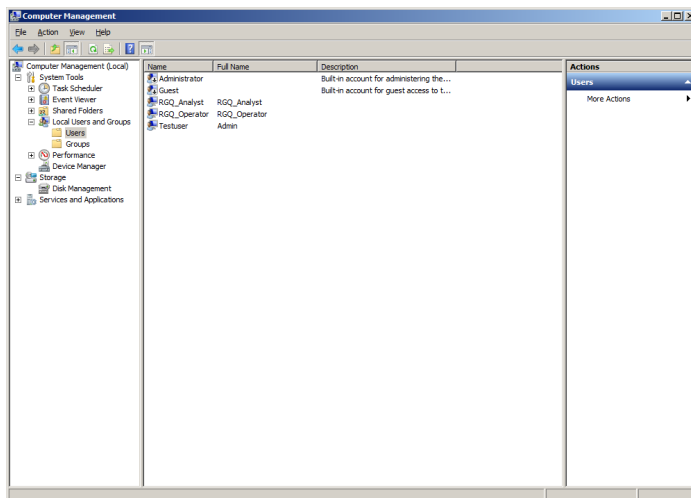
## Работа като администратор

Много потребители работят на компютрите си в качеството си на администратор, без парола. Въпреки че е удобно, това прави невъзможно да се определи кой използва компютъра. Това елиминира отчетността и предотвратява активирането на много от мерките за сигурност на софтуера Rotor-Gene Q. Когато работите като администратор, всички софтуерни функции са активирани. Следователно работата като администратор гарантира, че потребителите, които не се нуждаят от функции за защита, имат достъп до всички софтуерни функции.

## Създаване на нов потребителски профил

Създайте потребителски профили за всеки потребител на софтуера. За всеки потребител повторете стъпките по-долу, докато бъдат създадени всички профили.

1. За да създадете нов потребител, изберете **Start/Control Panel/Administrative Tools/Computer Management** (Стартиране/Контролен панел/Административни инструменти/Управление на компютъра) и отидете до **Local Users and Groups** (Местни потребители и групи) в ляво.
2. В прозореца, който се показва, изберете папката **Users** (Потребители). Кликнете с десния бутон върху десния прозорец и изберете **New User** (Нов потребител).



3. Въведете потребителско име и парола. По подразбиране потребителят ще бъде създаден с обикновени права за достъп. Това означава, че ще може да работи със софтуера, но не и да инсталира нови програми и да променя системните настройки.

The image shows a 'New User' dialog box with the following fields and options:

- User name: newuser
- Full name: New User
- Description: (empty)
- Password: (masked with 5 dots)
- Confirm password: (masked with 5 dots)
- User must change password at next logon
- User cannot change password
- Password never expires
- Account is disabled

Buttons: Help, Create, Close

4. Кликнете върху **Create** (Създаване). Вече можете да влезете като този потребител.

#### Присвояване на роли на всеки потребител

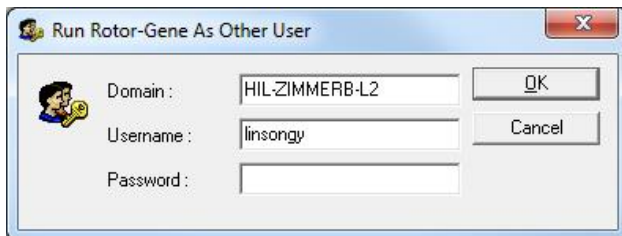
Сега трябва да присвоите роля на всеки потребител. Достъпът се разделя на следните зони:

- Оператор на Rotor-Gene Q – може да извършва тестове, но не може да генерира отчети или да извършва анализи;
- Анализатор на Rotor-Gene Q – може да анализира данни за даден цикъл и да генерира отчети, но не може да извършва нови цикли;
- Оператор и анализатор на Rotor-Gene Q – притежава възможностите и на двете роли;
- Администратор – може да отключва имена на проби и да изпълнява всички операции на анализатора и оператора;
- Без роля – достъпът до софтуера е отказан.



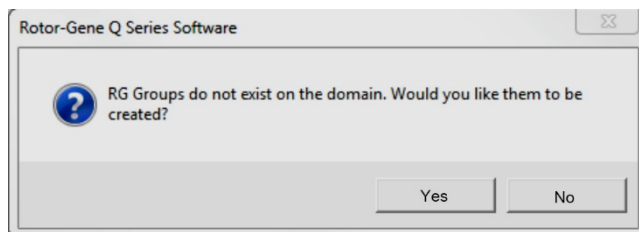
За да присвоите роля:

1. Влезте в Windows като администратор или използвайте иконата **Rotor-Gene Q Software Login** (Вход в софтуера Rotor-Gene Q), за да отворите софтуера и да влезете.

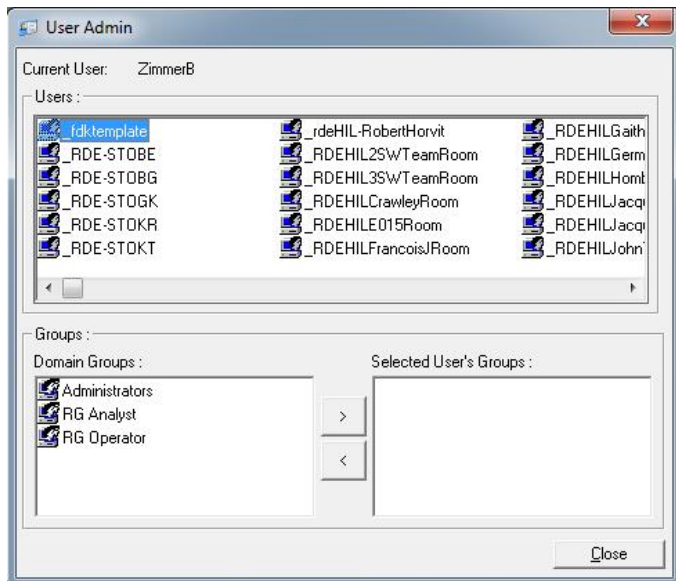


**Забележка:** За да създадете RG групи със софтуера Rotor-Gene Q, е необходимо да стартирате софтуера с администраторски права. Това става, като кликнете с десния бутон върху иконата на работния плот и изберете **Run as administrator** (Стартирай като администратор) от контекстното меню.

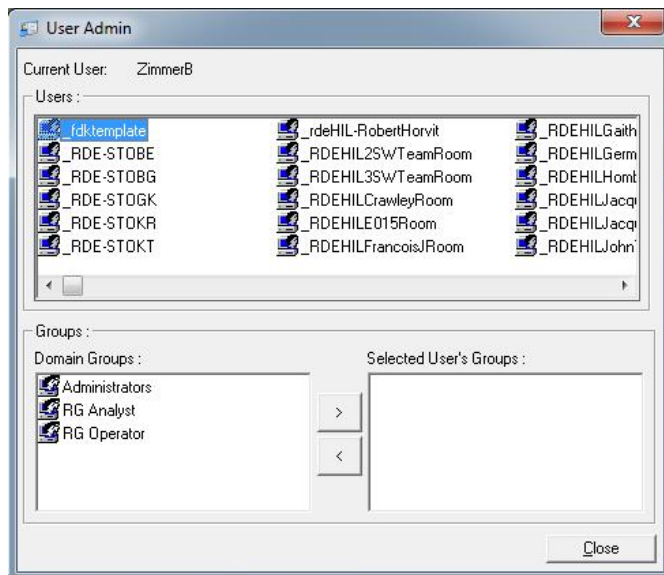
2. След като софтуерът е отворен, кликнете върху менюто **Security** (Сигурност). При първия достъп до менюто **Security** (Сигурност), софтуерът Rotor-Gene Q конфигурира редица системни групи, които ще контролират достъпа до софтуера.



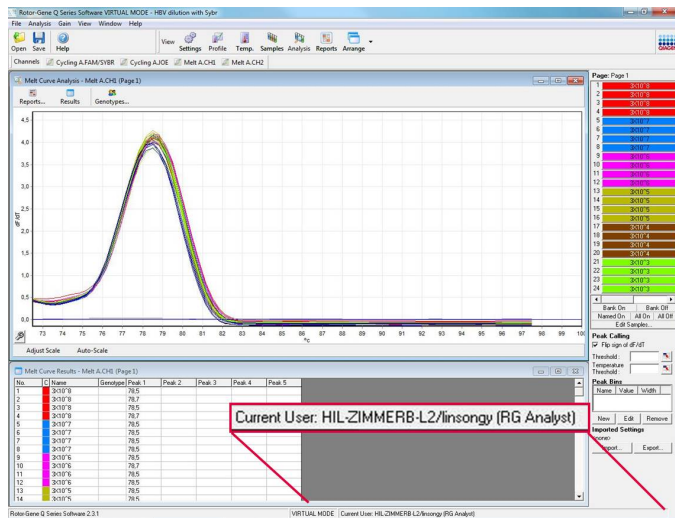
3. Кликнете върху **Yes** (Да). Появява се прозорецът **User Admin** (Администратор на потребители). В горния панел се визуализират всички потребители на компютъра. Някои профили се използват от системата и затова ще бъдат непознати. Долният панел показва групите, присвоени на потребителя.



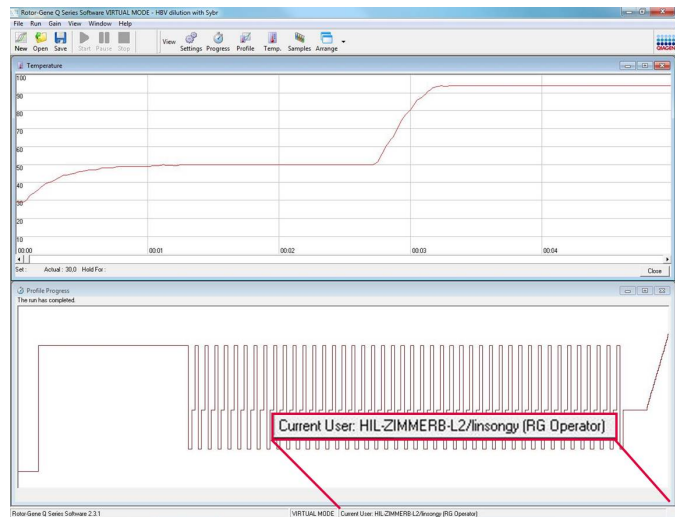
4. За да присвоите група на потребител, изберете името на потребителя от списъка. Долният панел ще се актуализира. Ако потребителят не е присвоен към дадени групи, той не може да стартира софтуера.
5. В примера по-долу, потребителят „**linsongy**“ се присвоява към групата RG Analyst (Анализатор на RG), чрез избор на групата от лявата страна и кликване върху бутона >. Групите могат да бъдат премахнати чрез избор на съответната група и кликване върху бутона <.



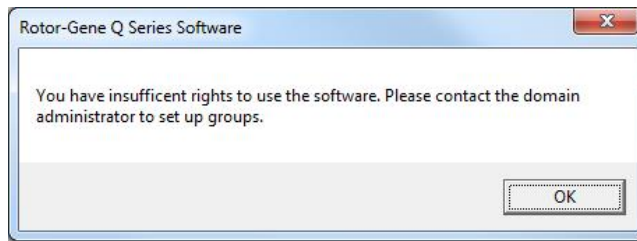
6. Сега влезте като този потребител. Менюто **Run** (Цикъл) и бутонът **Profile** (Профил) не са достъпни за RG Analyst (Анализатор на RG). Въпреки това, съществуващите файлове могат да се отворят и анализират, както е показано на екранната снимка по-долу. Лентата на състоянието показва, че потребителят „**linsongy**“ е RG Analyst (Анализатор на RG).



- След като влезете отново като администратор, можете да решите дали да присвоите правата на RG Operator (Оператор на RG) или премахнете правата на RG Analyst (Анализатор на RG) на потребителя „linsongy“. След това софтуерът трябва да се стартира отново. Този път менюто **Analysis** (Анализ) и бутонът **Reports** (Отчети) ще липсват, а менюто **Run** (Цикъл) ще е активно. Лентата на състоянието показва, че потребителят „linsongy“ принадлежи към групата RG Operator (Оператор на RG).



- Ако влезете като администратор и премахнете потребителя „linsongy“ от всички групи, ще се появи следното съобщение при отваряне на софтуера от същия потребител.



## 6.9.2 Конфигурация за Windows 10

Този раздел описва как да се настрои системата така, че софтуерът Rotor Gene Q да работи сигурно.

За да използвате функциите за сигурност, софтуерът трябва да бъде инсталиран с опцията **Force authentication through Windows domain** (Задължителна автентификация чрез домейн на Windows). Това подготвя домейна на Windows за вашето ниво на достъп и идентификационни данни и е от съществено значение за предоставяне на функциите за отчетност и сигурност.

### Работа като администратор

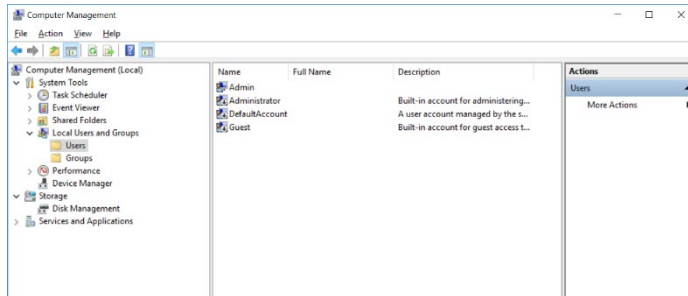
Много потребители работят на компютрите си в качеството си на администратор, без парола. Въпреки че е удобно, това прави невъзможно да се определи кой използва компютъра. Това елиминира отчетността и предотвратява активирането на много от мерките за сигурност на софтуера Rotor-Gene Q.

Когато работите като администратор, всички софтуерни функции са активирани. Следователно работата като администратор гарантира, че потребителите, които не се нуждаят от функции за защита, имат достъп до всички софтуерни функции.

### Създаване на нов потребителски профил

Създайте потребителски профили за всеки потребител на софтуера. За всеки потребител повторете стъпките по-долу, докато бъдат създадени всички профили.

1. За да създадете нов потребител, изберете **Start** (Стартиране), влезте в **Computer Management** (Управление на компютъра), натиснете **Enter** (Въвеждане) и отидете до **Local Users and Groups** (Местни потребители и групи) в ляво.
2. В прозореца, който се показва, изберете папката **Users** (Потребители). Кликнете с десния бутон върху десния прозорец и изберете **New User...** (Нов потребител...).



- Въведете потребителско име и парола. По подразбиране потребителите ще бъдат създадени с обикновени права за достъп. Това означава, че ще може да работи със софтуера, но не и да инсталира нови програми и да променя системните настройки.

- Кликнете върху **Create** (Създаване). Вече можете да влезете като този потребител.

### Присвояване на роли на всеки потребител

Сега трябва да присвоите роля на всеки потребител. Достъпът се разделя на следните зони:

- Оператор на Rotor-Gene Q – може да извършва тестове, но не може да генерира отчети или да извършва анализи;
- Анализатор на Rotor-Gene Q – може да анализира данни за даден цикъл и да генерира отчети, но не може да извършва нови цикли;
- Оператор и анализатор на Rotor-Gene Q – притежава възможностите и на двете роли;

- Администратор – може да отключва имена на проби и да изпълнява всички операции на анализатора и оператора;
- Без роля – достъпът до софтуера е отказан.

**Забележка:** В Microsoft Windows 10 не е възможно да се създават потребителски групи със софтуера Rotor-Gene Q. Създаването на групи, както и присвояването на потребители към конкретна група, трябва да става в домейна от администратор на домейна. Менюто Run (Цикъл) е активно. Лентата на състоянието показва, че потребителят „linsongy“ принадлежи към групата RG Operator (Оператор на RG).

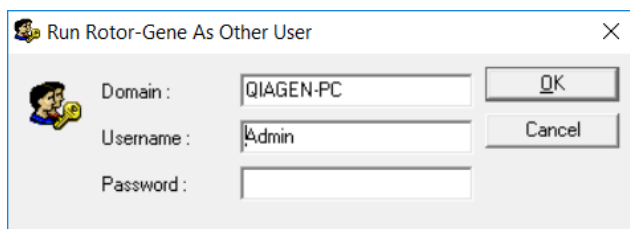
### 6.9.3 Работа на няколко потребителя на един и същ компютър

За използване на софтуера Rotor-Gene Q от няколко потребителя, създайте потребителски профил, който няма достъп до софтуера Rotor-Gene Q. Влезте в Windows, като използвате този профил, така че потребителите да нямат анонимен достъп до Rotor-Gene Q MDx.

1. С помощта на иконата **Rotor-Gene Q Software Login** (Вход в софтуера Rotor-Gene Q) потребителите могат да отворят своя потребителски профил в софтуера Rotor-Gene Q.



2. Въведете потребителското име и паролата (задължително) в полето, което се показва.



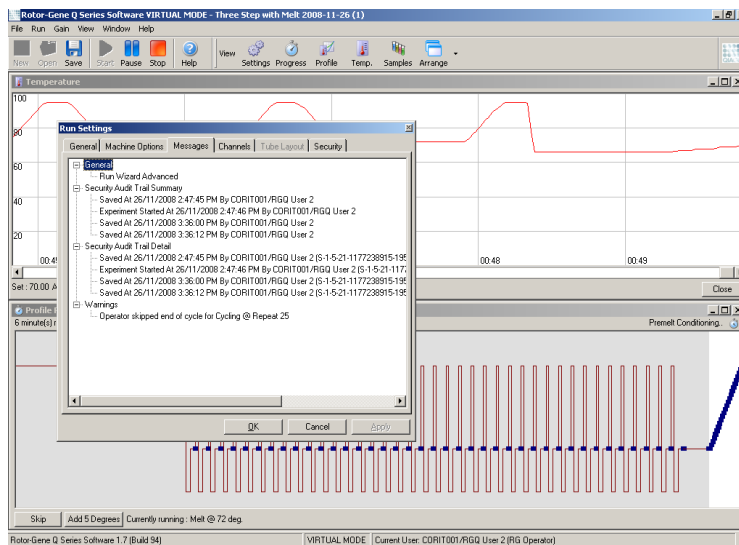
3. Домейнът е или компютърът, в който влизате, или името на локалната ви мрежа, заедно с името на хоста. Консултирайте се с вашия мрежов администратор, ако не сте сигурни кой домейн да въведете в това поле.

**Забележка:** След като влезе, този потребител ще има достъп до всички потребителски файлове. Всеки потребител може да записва файлове в своя собствена зона. Това гарантира високо ниво на сигурност.

**Забележка:** Всеки потребител трябва да излезе от софтуера, след като е завършил работата си, за да попречи на други потребители да извършват цикли от негово име.

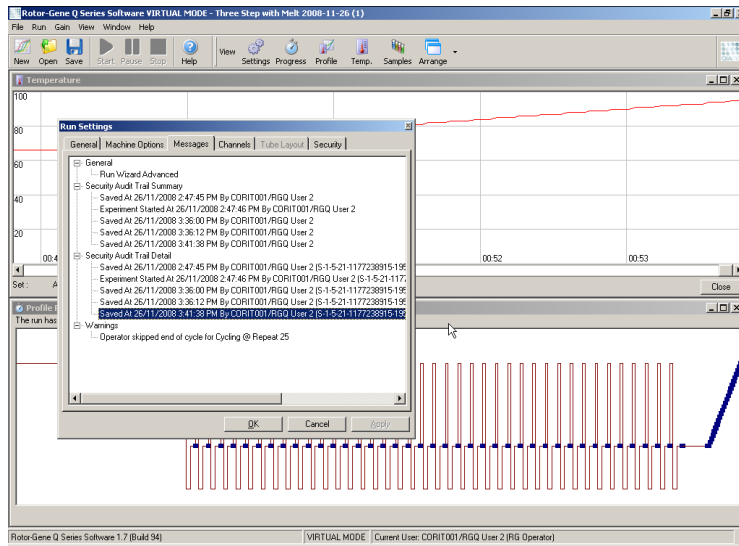
## 6.9.4 Одитни пътеки

Всеки път, когато даден файл бъде запазен от потребител, неговите данни се записват в **Run Settings** (Настройки за цикъла) в раздела **Messages** (Съобщения) като Security Audit Trail Summary (Обща информация за пътеката за одит на сигурността) и Security Audit Trail Detail (Подробности за пътеката за одит на сигурността).



По този начин може да се провери кой е променял съдържанието на даден файл. Подробностите за пътеката за одит на сигурността съдържат повече детайли, като уникалния идентификатор на потребителя. Този идентификатор е важен, за да се избегне създаването на профил със същото име на друг компютър и представянето за друг потребител. В този случай потребителските имена ще бъдат еднакви, но идентификаторите на профила ще бъдат различни.

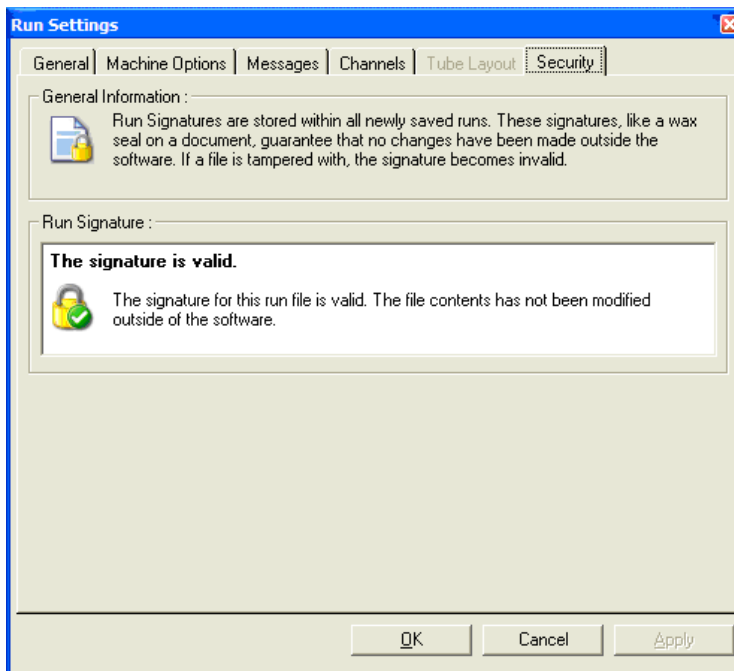
Идентификаторът за профила CORIT001/RGQ User 2, S-1-5-21-1177238915-195, е показан в подробностите.



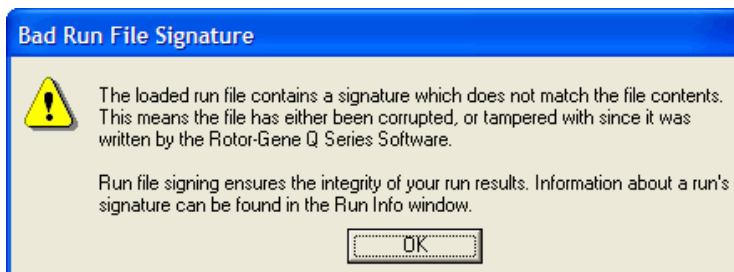


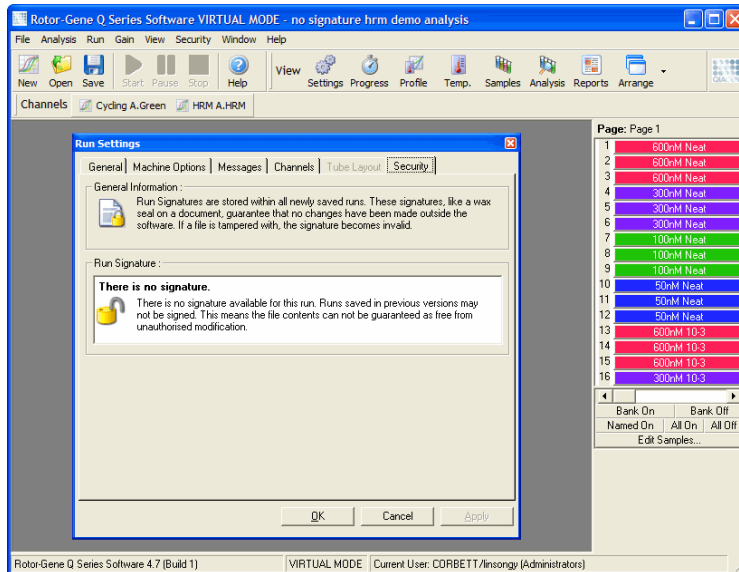
## 6.9.5 Сигнатури на циклите

Одитната пътека се съхранява в run файла на Rotor-Gene Q. За да се избегне нежелана модификация на тези файлове, те трябва да се съхраняват на безопасно място, достъпно само за определени профили в Windows. Въпреки това, ако файловете се съхраняват в споделена област, опцията Run Signatures (Сигнатури на циклите) осигурява допълнителна сигурност. Екранната снимка показва раздела **Security** (Сигурност) в Run Settings (Настройки за цикъла) за файл с активирана опция Run Signature (Сигнатура на цикъла).



Сигнатурата на цикъла е дълга дума, която се генерира при всяко запазване на файла и се свързва със съдържанието на файла. Например, сигнатурата за този файл е **517587770f3e2172ef9cc9bd0c36c081**. Ако файлът е отворен в Notepad и е направена редакция (например датата на цикъла се промени на 3 дни по-рано), когато файлът се отвори отново се появява следното съобщение.





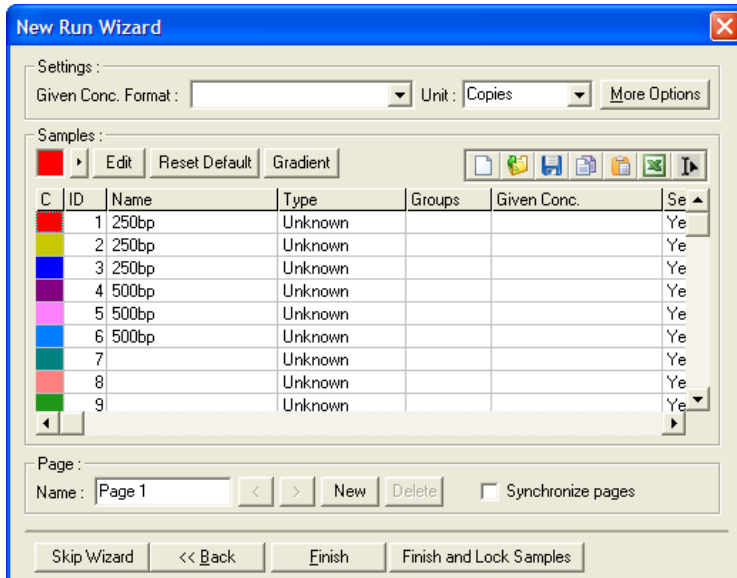
**Забележка:** Ако изпращате файлове по имейл, процесът на криптиране може да наруши сигнатурата. За да избегнете това, архивирайте файла, преди да го изпратите.

### 6.9.6 Заклучване на проби

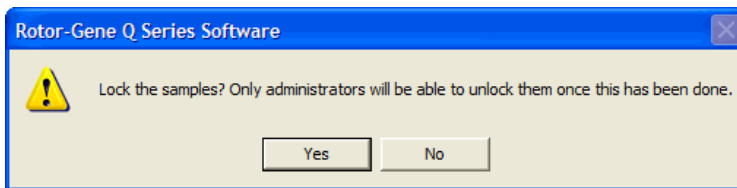
Важно е да се гарантира, че имената на пробите не се променят случайно или умишлено, след като потребителят стартира цикъла. Поради тази причина софтуерът Rotor-Gene Q осигурява заключване на пробата. Имената на пробите могат да бъдат заключени от всеки потребител, но могат да бъдат отключени само от администратор. За потребители, които работят на компютрите си в режим на администратор, тази опция е с ограничена стойност. За да използвате тази опция, компютърът трябва да бъде конфигуриран сигурно, както е описано в предходните раздели.

**Забележка:** Ако искате да заключите дадени проби, не стартирайте софтуера като администратор. Създайте профил в групите на RG Operator (Оператор на RG) или RG Analyst (Анализатор на RG) и запазете паролата на администратор в тайна. След това потребителите ще изискват разрешение от администратора за отключване на файлове.

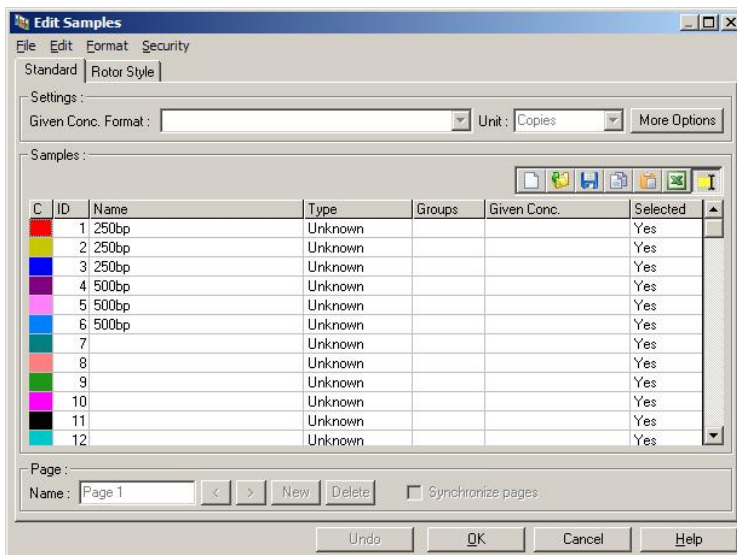
Пробите могат да бъдат заключени преди стартиране на даден цикъл с помощта на разширения съветник, като кликнете върху **Finish and Lock Samples** (Завършване и заключване на пробите).



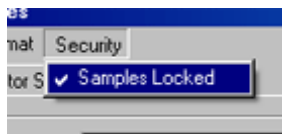
Ще се появи следното предупреждение. Кликнете върху **Yes (Да)**, за да потвърдите.



След като пробите са заключени, няма да е възможно да се редактират проби в прозореца **Edit Samples (Редактиране на проби)**.



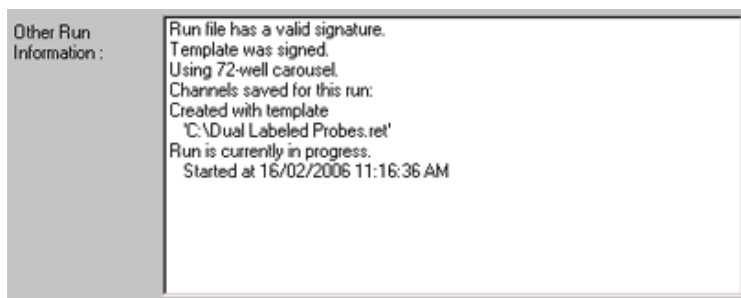
Пробите могат също да бъдат заключени и отключени в прозореца **Edit Samples** (Редактиране на проби). Въпреки това само администратор може да отключи проби, след като са били заключени.



Всяка неупълномощена промяна във файла ще доведе до невалидност на сигнатурата на цикъла.

### 6.9.7 Заключени шаблони

Понастоящем не е възможно потребителят да създава шаблонни файлове само за четене с помощта на софтуера Rotor-Gene Q. Въпреки това, ако желаете, може да се зададе изискване всички цикли да се извършват по определен шаблонен файл. За да се осигури достъп само за четене до този шаблон, той трябва да се съхранява на мрежово устройство, където потребителите не могат да променят данни. Потребителите могат да стартират и променят собствените си профили, докато шаблонът е защитен. За да проследи кой шаблон е бил използван, софтуерът Rotor-Gene Q съхранява името на шаблонния файл, който е бил стартиран. Тази информация може да бъде достъпна, като кликнете върху бутона **Settings** (Настройки), което след това позволява да се визуализира прозорецът **Run Settings** (Настройки за цикъла). Информацията за шаблона се съхранява в **Other Run Information** (Друга информация за цикъла).



### 6.10 Меню Gain (Усилване)

Кликнете върху менюто **Gain** (Усилване), за да видите **Gain Settings** (Настройки на усилването) за текущия цикъл. Това задава усилването на посочения канал преди даден цикъл. Настройките на усилването от последния цикъл се запазват. Те могат да бъдат променени, ако цикълът все още не е започнал или в първоначалните цикли. Използвайте стрелките нагоре/надолу до всяко текстово поле, за да промените полетата. След това кликнете върху **OK**.

Коефициентът на усилване може да се променя по време на първоначалните цикли. Червена линия ще се появи в съответния канал, показваща къде е променено усилването. Циклите преди промяната на усилването ще бъдат изключени от анализа.

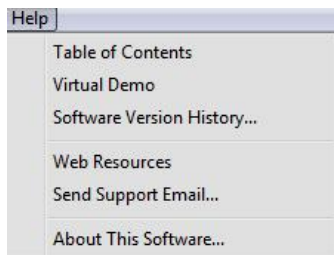


## 6.11 Меню Window

Това меню позволява подреждане на прозорците вертикално, хоризонтално или в каскада. Допълнителни опции са достъпни, като кликнете върху стрелката вдясно от бутона **Arrange** (Подреждане).

## 6.12 Функция „Помощ“

Когато използвате бутона **Help** (Помощ) или менюто Help (Помощ), ще се отвори следното падащо меню.



<b>Table of Contents</b> (Съдържание):	Осигурява достъп до функцията Help (Помощ).
<b>Virtual Demo</b> (Виртуална демонстрация):	Води към уеб страница на QIAGEN с интерактивна демонстрация на софтуера.
<b>Software Version History...</b> (История на версиите на софтуера...):	Дава кратък преглед на новите функции, добавени след инсталираната по-рано версия на софтуера.
<b>Web Resources</b> (Уеб ресурси):	Отваря уеб страница на QIAGEN в нов прозорец на браузъра с ценна актуална информация относно апаратите Rotor Gene Q MDx и съответните реактиви.
<b>About This Software...</b> (Информация за софтуера...):	Предоставя информация за свързания апарат, серийния номер на Rotor-Gene Q MDx и версията на софтуера.

## 6.12.1 Изпращане на имейл за поддръжка

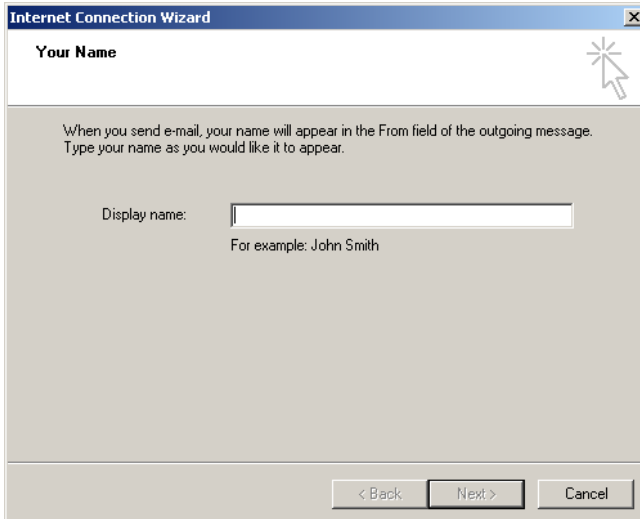
Опцията **Send Support Email** (Изпращане на имейл за поддръжка) в менюто **Help** (Помощ) дава възможност за изпращане на имейл за поддръжка до QIAGEN, включващ цялата необходима информация от даден цикъл. Опцията **Save As** (Запазване като) ще запази цялата информация във файл, който можете да копирате на диск или в мрежа, ако нямате достъп до електронна поща на компютъра, работещ с Rotor-Gene Q MDx.

Ако използвате функцията за изпращане на имейл за поддръжка за първи път на преносим компютър, осигурен като опция с Rotor-Gene Q MDx (в зависимост от държавата), е необходимо да конфигурирате имейл настройките си.

**Забележка:** Можете да използвате данните, въведени от ИТ мениджъра на компанията ви.

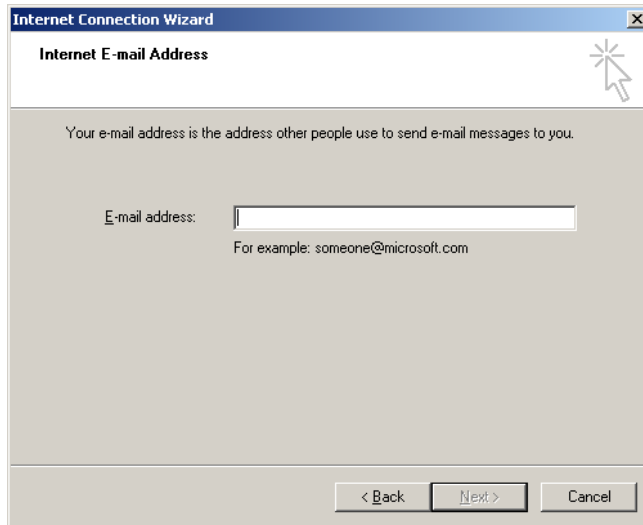
### Конфигуриране на имейл настройките

Кликнете върху опцията **Send Support Email...** (Изпращане на имейл за поддръжка...). Отваря се следният прозорец.

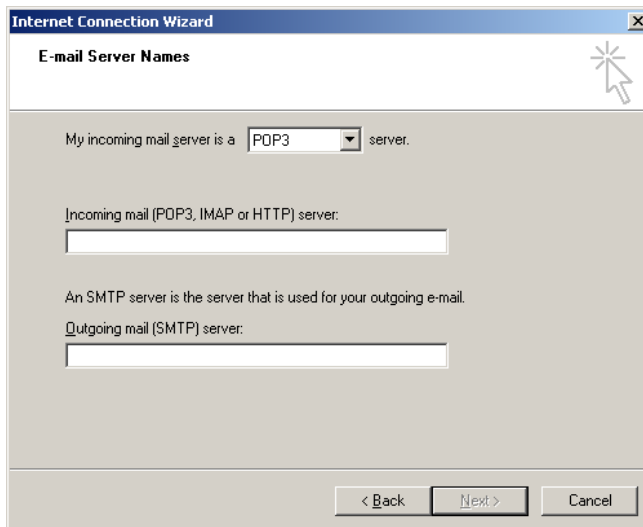


The screenshot shows a window titled "Internet Connection Wizard" with a close button (X) in the top right corner. The main heading is "Your Name". Below the heading, there is a mouse cursor icon. The text reads: "When you send e-mail, your name will appear in the From field of the outgoing message. Type your name as you would like it to appear." Below this text is a text input field labeled "Display name:". Underneath the input field, it says "For example: John Smith". At the bottom of the window, there are three buttons: "< Back", "Next >", and "Cancel".

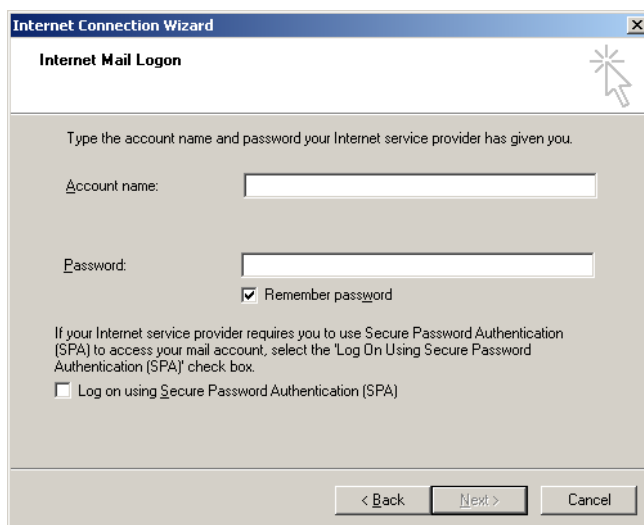
1. Въведете името си и кликнете върху **Next** (Напред). Ще се отвори прозорецът **Internet E-mail Address** (Имейл адрес в интернет).



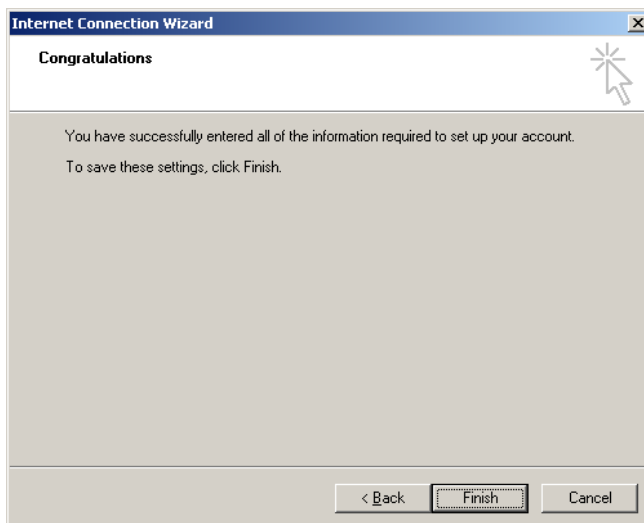
2. Въведете своя имейл адрес и натиснете **Next** (Напред). Ще се отвори прозорецът **E-mail Server Names** (Имена на имейл сървъри).



- Изберете типа на имейл сървъра за входящи имейли и посочете имената на сървъра за входящи и изходящи имейли. След това натиснете **Next** (Напред). Ще се отвори прозорецът **Internet Mail Logon** (Вход в имейла).



- Въведете името и паролата на имейл профила ви, ако сървър използва защита чрез удостоверяване с парола. След това кликнете върху **Next** (Напред). Ще се отвори прозорецът **Congratulations** (Поздравления).

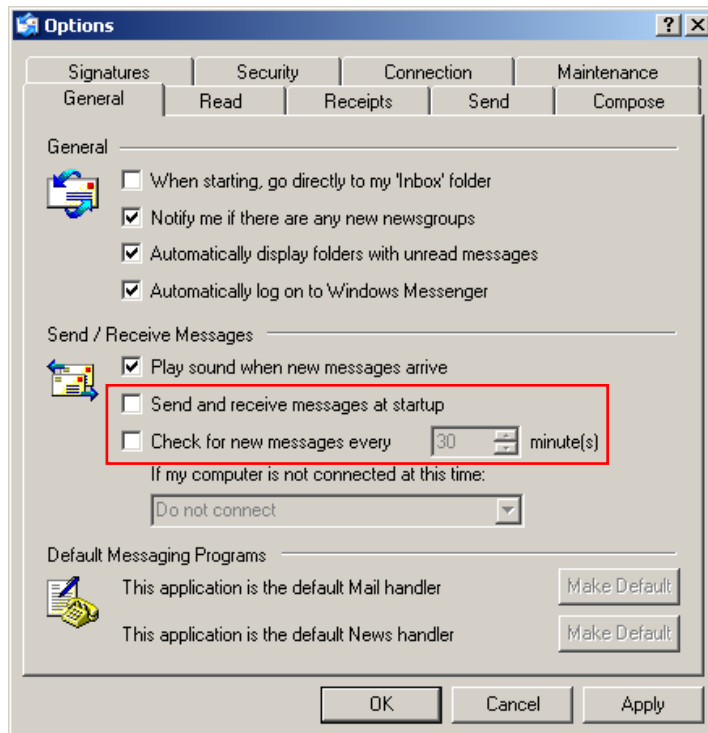


- Потвърдете с **Finish** (Завършване), за да завършите настройката на имейл профила.



## Настройка в Outlook

1. Отворете **Outlook Express** от менюто **Start** (Стартиране) (**Start** (Стартиране) > **All programs** (Всички програми) > **Outlook Express**) (Outlook Express).
2. Изберете **Tools** (Инструменти) и след това **Options** (Опции). Появява се прозорецът по-долу.



**Важно:** За да избегнете всяко извличане на имейли по време на PCR цикли, деактивирайте записите по подразбиране в екрана **Send/Receive Messages** (Изпращане/получаване на съобщения).

3. Деактивирайте **Send and receive messages at startup** (Изпращане и получаване на съобщения при стартиране).
4. Деактивирайте **Check for new messages every 30 minutes** (Проверка за нови съобщения на всеки 30 минути).
5. Потвърдете промените като натиснете **OK**.

## 7 Допълнителни функции

### 7.1 Шаблони за анализ

Някои анализи изискват от потребителя да дефинира прагове, настройки за нормализиране и генотипи. Често тези настройки се използват многократно в множество експерименти.

Шаблоните за анализ позволяват на потребителя да запази и използва повторно тези настройки. Това намалява усилията за повторно въвеждане на настройките и намалява риска от грешки.

Количественото определяне, топенето, алелната дискриминация, анализът на диаграмата на разсейване и анализът на крайната точка поддържат шаблони за анализ. Тези анализи позволяват на потребителя да експортира шаблон, който е уникален за анализа (например количественият анализ позволява експортиране и импортиране на \*.qut файлове, които съдържат настройки за количествено определяне).

След импортиране или експортиране на шаблон за анализ, името на файла на шаблона се визуализира за бъдещи справки.

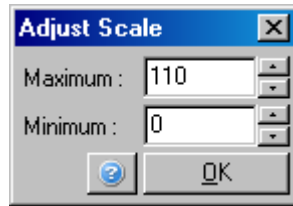


### 7.2 Отваряне на втори цикъл

По време на цикъл е възможно да се отворят и анализират цикли, които са изпълнени по-рано. Във втория прозорец, някои от функциите, като бутоните **New** (Нов) или **Start Run** (Стартиране на цикъл), не са активни. Нов цикъл може да се започне от първия прозорец, след като първият цикъл приключи.

### 7.3 Опции за мащабиране

За да получите достъп до **Adjust Scale** (Регулиране на мащаба), кликнете върху **Adjust Scale...** (Регулиране на мащаба...) в долната част на основния прозорец или кликнете с десен бутон върху графиката и изберете **Adjust Scale...** (Регулиране на мащаба...) от менюто, което се визуализира. Мащабът може да се въведе и ръчно в появилия се прозорец.



За да получите достъп до **Auto-Scale** (Автоматично мащабиране), кликнете върху **Auto-Scale...** (Автоматично мащабиране...) в долната част на основния прозорец или кликнете с десен бутон върху графиката и изберете **Auto-Scale...** (Автоматично мащабиране...) от менюто, което се визуализира. **Auto-Scale** (Автоматично мащабиране) се опитва да напасне мащабирането към максималните и минималните показания в данните.

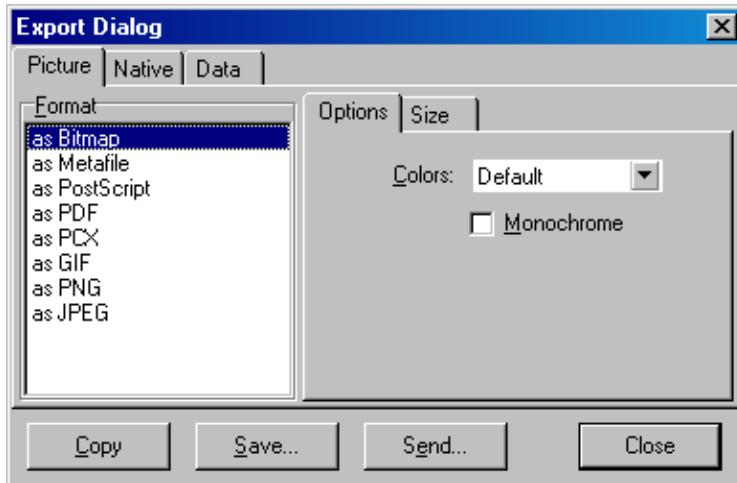
За да получите достъп до **Default Scale** (Мащаб по подразбиране), кликнете върху **Default Scale...** (Мащаб по подразбиране...) в долната част на основния прозорец или кликнете с десен бутон върху графиката и изберете **Default Scale...** (Мащаб по подразбиране...) от менюто, което се визуализира. **Default Scale** (Мащаб по подразбиране) нулира мащаба до визуализиране на от 0 до 100 флуоресцентни единици.

## 7.4 Експортиране на графики

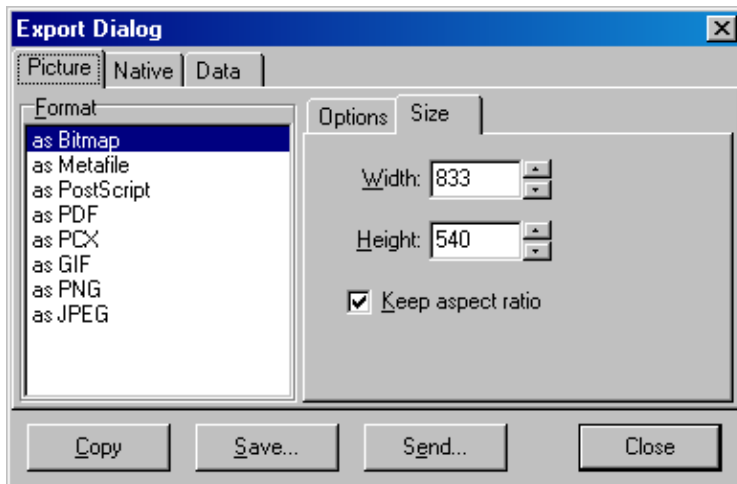
### Експортиране на изображения

Следващите стъпки описват как да запазвате изображения.

1. Кликнете с десния бутон върху изображението и изберете **Export** (Експортиране) от менюто, което се визуализира.
2. Появява се прозорецът **Export Dialog** (Диалогов прозорец за експортиране). Изберете желанния формат от списъка **Format** (Формат).



3. Изберете раздела **Size** (Размер) и посочете желания размер.



4. Поставете отметка в квадратчето **Keep aspect ratio** (Запазване на съотношението), за да запазите изображението в правилната пропорция, когато регулирате размера му.

5. Кликнете върху **Save** (Запазване) и изберете име на файла и местоположение за файла в диалоговия прозорец, който се визуализира.

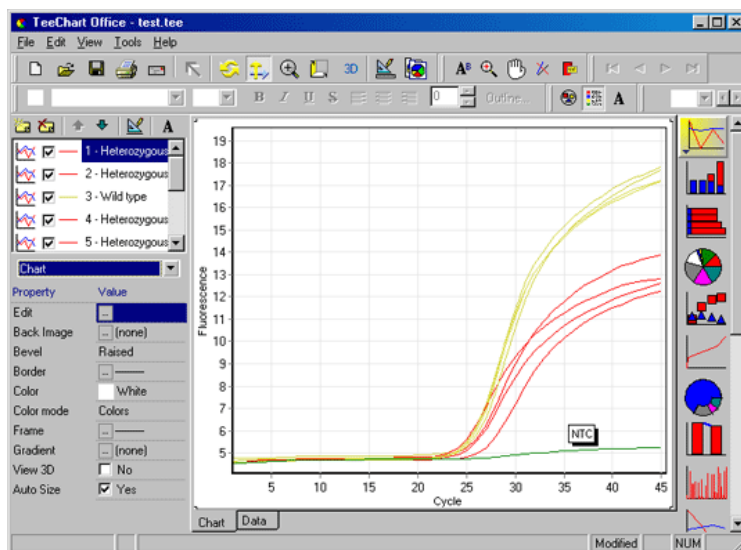
Ако се изисква изображение с по-висока разделителна способност, препоръчваме или да увеличите размера на изображението, докато не отговори на изискванията ви, или да запазите графиката като метафайл (\*.emf, \*.wmf). Това е векторно базиран формат, който може да бъде отворен в софтуер като Adobe® Illustrator®, позволявайки на потребителя да създаде изображение с всякаква разделителна способност.

## Експортиране в нативен формат

Графиките в софтуера Rotor-Gene Q използват компонента TeeChart® на трета страна, разработен от софтуера Steema. За да запазите графика в естествен формат, изберете раздела the **Native** (нативен) в прозореца **Export Dialog** (Диалогов прозорец за експортиране) (вижте предишната екранна снимка) и след това кликнете върху **Save** (Запазване). Нативният формат е стандартният файлов формат TeeChart. Това позволява на потребителя да използват TeeChart Office от софтуера Steema. TeeChart Office се предлага като безплатен софтуер и е инсталиран като част от софтуерния пакет Rotor-Gene Q. За достъп до софтуера кликнете върху иконата **TeeChart** на работния плот.

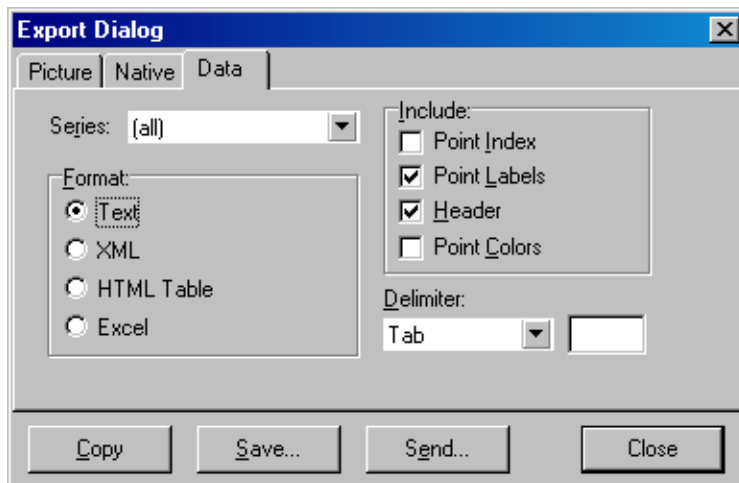


TeeChart Office позволява манипулиране на експортирани графики, включително промяна на цветовете на кривите, добавяне на бележки, промяна на шрифтове и коригиране на точки от данни.



## Експорт на данни

За да експортирате данни в различни формати, изберете раздела **Data** (Данни) в прозореца **Export Dialog** (Диалогов прозорец за експортиране). Експортираният файл съдържа необработените точки от данни, използвани в графиката.

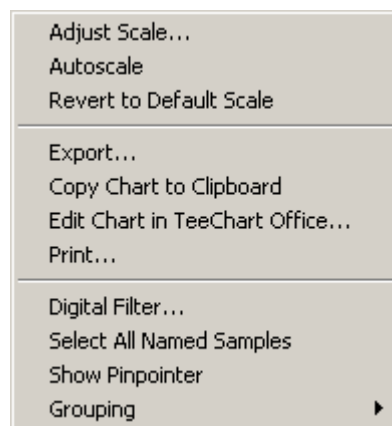


Експортирането на необработени данни и данни за анализ може да се извърши и чрез избор на **Save As** (Запазване като) под менюто **File** (Файл) (вижте раздел 6.5).

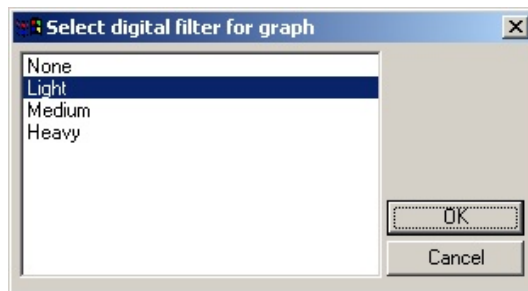
## 7.5 Икона на винтов/гаечен ключ



Иконата на винтов/гаечен ключ се появява в долния ляв ъгъл на основния прозорец. Кликването върху иконата на винтов/гаечен ключ позволява няколко опции. Тези опции могат да бъдат достъпни и чрез кликване с десния бутон върху графиката.



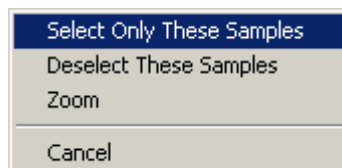
<b>Adjust Scale, Autoscale, Revert to Default Scale</b> (Регулиране на мащаба, автоматично мащабиране, връщане към мащаба по подразбиране):	Вижте раздел 7.3.
<b>Export...</b> (Експортиране...):	Записва графиката в различни формати (вижте раздел 6.4).
<b>Copy Chart to Clipboard</b> (Копиране на диаграма в буферната памет):	Копира изображението на графиката в буферната памет.
<b>Edit Chart in TeeChart Office...</b> (Редактиране на диаграмата в TeeChart Office...):	Отваря графиката директно в TeeChart Office за редактиране (вижте раздел 6.4).
<b>Print</b> (Отпечатване):	Отпечатва графиката.
<b>Digital Filter...</b> (Дигитален филтър...):	Променя понастоящем избрания цифров филтър на графиката. Цифровият филтър изглажда данните с помощта на плъзгащ се прозорец от точки.



<b>Show Pinpointer</b> (Показване на пинпойнтера):	Отваря прозорец, който показва точните координати на позицията на показалеца на мишката.
<b>Grouping</b> (Групиране):	Визуално групира проби, които имат идентични имена. Това може да бъде полезно при пълен ротор. Избирането на тази опция не засяга изчислените стойности.

## 7.6 Опции за избиране на област

Дадена област от графика може да бъде избрана чрез кликване и задържане на левия бутон на мишката и плъзгане на показалеца на мишката. Появяват се следните опции.



<b>Select Only These Samples</b> (Избиране само на тези проби):	Пробите извън избраната област се изключват.
<b>Deselect These Samples</b> (Избиране само на тези проби):	Пробите извън избраната област се изключват.
<b>Zoom</b> (Мащабиране):	Увеличава мащаба на избраната област от графиката. Кликнете върху бутона <b>Default Scale</b> (Мащаб по подразбиране), за да намалите мащаба.

## 8 Поддръжка

Поддържането на работните характеристики на Rotor-Gene Q MDx е лесно. Оптичните характеристики се поддържат, като се гарантира, че лещите, разположени както на източника на излъчване, така и на източника на откриване, са чисти. Това се постига чрез внимателно избърсване на лещите с апликатор с памучен връх, навлажнен с етанол или изопропанол\*.

**Забележка:** Почиствайте лещите поне веднъж месечно, в зависимост от честотата на употреба. Избърсвайте и камерата на ротора едновременно с това.

Пазете работната повърхност чиста и без прах и листове хартия. Входът за въздух на Rotor-Gene Q MDx е отдолу и материали като свободно стояща хартия и прах могат да компрометират работата му.



За да избегнете натрупване на прах, дръжте капака на Rotor-Gene Q MDx затворен, когато апаратът не се използва.

**Забележка:** Използвайте само части, доставени от QIAGEN.

### 8.1 Почистване на повърхността на Rotor-Gene Q MDx

Външните повърхности на Rotor-Gene Q могат да се почистват с общодостъпни лабораторни химикали.

\* При работа с химикали винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и защитни очила. За повече информация вижте съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheets, SDS), които можете да намерите при доставчика на продукта.



---

## 8.2 Обеззаразяване на повърхността на Rotor-Gene Q MDx

Ако камерата на ротора се замърси, тя може да се почисти, като избършете повърхностите с кърпа без власинки, навлажнена (но не мокра) с 0,1% (v/v) разтвор на белина.\* Избършете камерата с кърпа без власинки, навлажнена с вода с клас за PCR, за да премахнете следите от белина.

## 8.3 Ремонт на Rotor-Gene Q

За ремонт или обслужване на Rotor-Gene Q се свържете с отдела за техническо обслужване на QIAGEN на адрес <https://www.qiagen.com/service-and-support/technical-support/technical-support-form/>.

\* При работа с химикали винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и защитни очила. За повече информация вижте съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheets, SDS), които можете да намерите при доставчика на продукта.

## 9 Оптична проверка на температурата

Оптичната проверка на температурата (Optical Temperature Verification, OTV) е метод, който проверява температурата в епруветките в Rotor-Gene Q MDx. Валидирането на тази температурата може да бъде важна процедура в сертифицираните лаборатории. OTV се извършва с помощта на набора Rotor-Disc OTV Kit (вижте раздел 16). По-долу е дадено само кратко въведение в принципа на OTV. Извършването на процедурата по OTV е описано в софтуера Rotor-Gene Q MDx. За по-подробно описание на OTV процедурата, включително ръководството за отстраняване на проблеми, моля, вижте *Наръчника за Rotor-Disc OTV*.

### 9.1 Принцип на OTV

OTV използва оптичните свойства на 3 термохроматични течни кристала (TLC)\* като абсолютни температурни референции. Когато се нагряват, TLC се променят от непрозрачни в прозрачни при много точни температури (50, 75 и 90°C). TLC сами по себе си не флуоресцират. Следователно е необходимо източникът на възбуждане да се покрие с флуоресцентна вложка, така че преходните точки на TLC да могат да бъдат открити от оптичната система Rotor-Gene Q MDx. TLC, които са под тяхната температура на преход, са непрозрачни и отразяват светлината. Част от отразената светлина се разсейва към детектора, увеличавайки флуоресценцията. Когато температурата в тръбата достигне точката на преход на TLC, TLC става прозрачен и светлината преминава през пробата, вместо да се отразява към детектора, което води до намаляване на флуоресценцията. Промяната във флуоресценцията се използва за определяне на точната температура на преход на всяка TLC. Температурата на преход се сравнява с температурата, отчетена от фабричния файл за калибриране за OTV Rotor-Disc, за да се провери дали Rotor-Gene Q MDx е в рамките на температурната спецификация.

\* При работа с химикали винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и защитни очила. За повече информация вижте съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheets, SDS), които можете да намерите при доставчика на продукта.

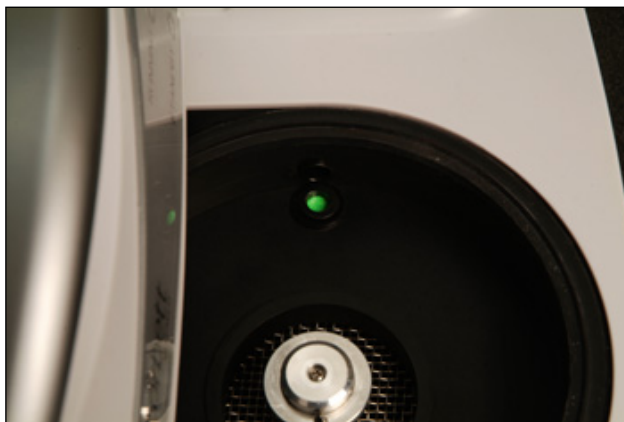
## 9.2 Компоненти на набора Rotor-Disc OTV Kit

Следните компоненти са необходими за стартиране на OTV:

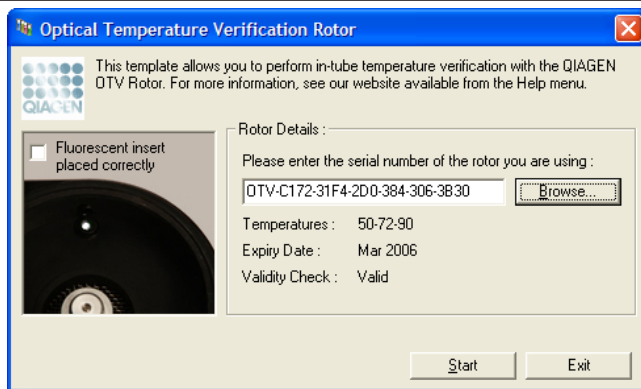
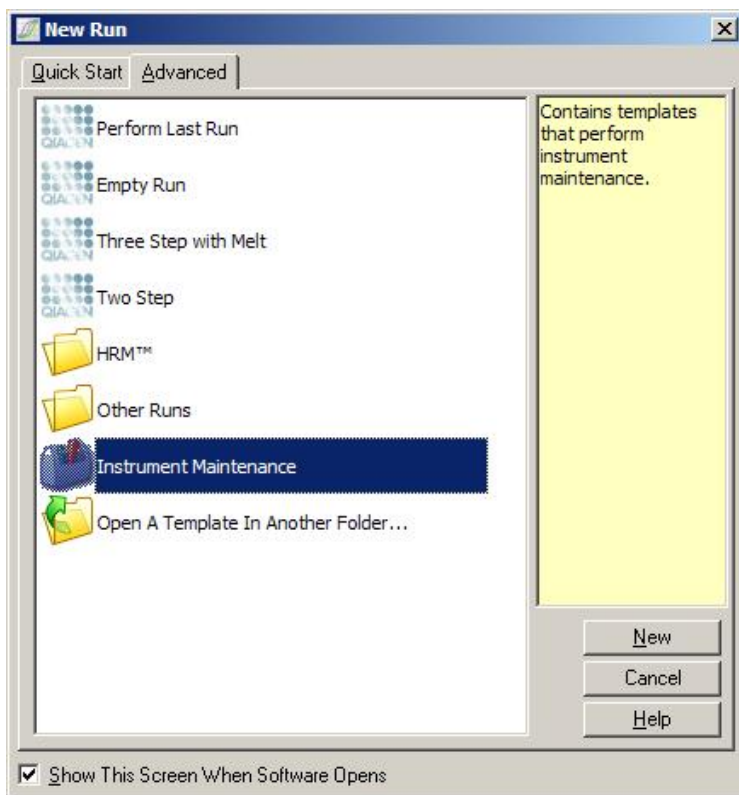
- Набор Rotor-Disc OTV Kit, който включва:
  - запечатан ротор Rotor-Disc 72 OTV Rotor (съдържа TLC);
  - вложка с разсейваща флуоресценцията плака (апарат Rotor-Gene 3000 или апарати Rotor-Gene Q/6000);
  - подвижен носител, който съдържа следните файлове: файл със серийния номер на ротора OTV Rotor и срока на годност (\*.txt); OTV файл с шаблон за тестване (\*.ret); листовка на продукта (\*.pdf); фабричен файл за калибриране (\*.rex);
  - листовка на продукта;
- софтуер Rotor-Gene Series, версия 1.7 или по-нова, която съдържа лесния за използване съветник за ротора OTV Rotor;
- Rotor-Disc 72 Rotor
- Rotor-Disc 72 Locking Ring

## 9.3 Стартиране на OTV

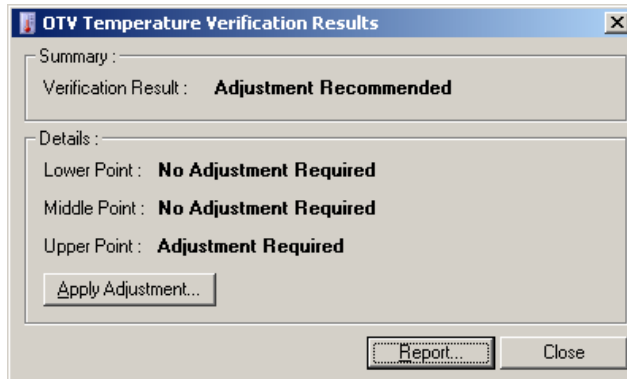
1. Поставете флуоресцентната вложка върху емисионната леща в долната част на камерата на Rotor-Gene Q MDx.
2. Поставете OTV Rotor-Disc в Rotor-Disc 72 Rotor. Фиксирайте с помощта на фиксиращия пръстен за Rotor-Disc 72. Поставете модула в Rotor-Gene Q MDx докато щракне на място. Затворете капака на Rotor-Gene Q MDx.



3. Влезте в разширения съветник, като изберете раздела **Advanced** (Разширени) в прозореца **New Run** (Нов цикъл). В разширения съветник кликнете върху **Instrument maintenance** (Поддръжка на апарата) и след това **OTV**. Съветникът подканва за въвеждане на серийния номер на OTV, който се намира на пръстена на OTV. След това кликнете върху **Start** (Стартиране).



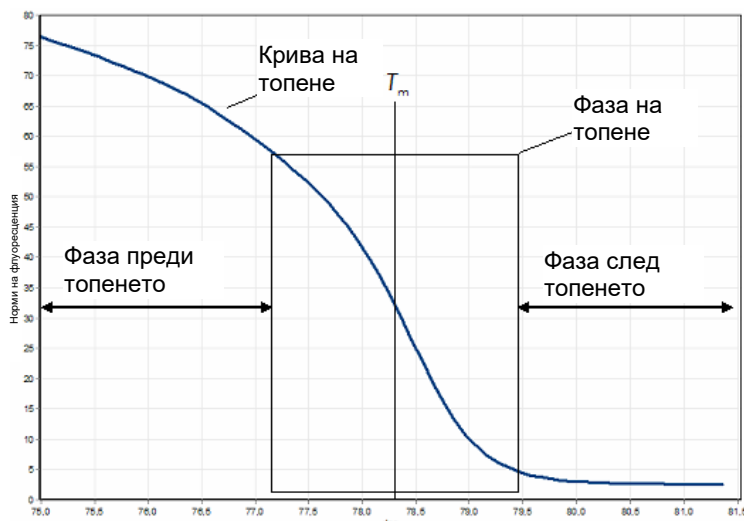
4. После софтуерът подканва за въвеждане на име на файла за цикъла. След това стартира цикълът.
5. Цикълът извършва серия от стопилки, които определят термичните характеристики на Rotor-Gene Q MDx.



6. Когато цикълът приключи, софтуерът показва дали Rotor-Gene Q MDx отговаря на спецификацията.
7. Ако е необходима корекция, потребителят трябва да кликне върху **Apply Adjustment** (Прилагане на корекция). Това подканва потребителя да извърши цикъл проверка. След като цикълът за проверка приключи, не се изисква допълнителна настройка. При необходимост от такава се свържете с вашия дистрибутор.
8. Когато Rotor-Gene Q MDx отговаря на спецификацията, може да се прегледа и отпечата отчет за цикъла.

## 10 Анализ на топене с висока разделителна способност

Анализът на топене с висока разделителна способност (HRM) е иновативна техника, която се основава на анализ на топенето на ДНК. HRM характеризира ДНК пробите според тяхното поведение на дисоциация, когато преминават от двойноверижна ДНК (dsDNA) към едноверижна ДНК (ssDNA) с повишаване на температурата (вижте фигурата по-долу). Инструментът HRM събира флуоресцентни сигнали с изключително висока оптична и термична прецизност, създавайки много възможности за приложение.



Типична HRM диаграма. Кривата на топене маркира прехода от висока флуоресценция по време на първоначалната фаза преди топенето, през намаляването на флуоресценцията във фазата на топене, до достигането на базови нива в крайната фаза след топенето. Флуоресценцията намалява с освобождаването на интеркалиращо багрило от двойноверижната ДНК при нейното топене до единични вериги. Средната точка на фазата на топене, при която скоростта на промяна на флуоресценцията е най-голяма, определя температурата на топене ( $T_m$ ) на анализирания ДНК.

Преди да се извърши анализ на HRM, целевата последователност трябва да бъде амплифицирана до голям брой копия. Това обикновено се извършва чрез PCR в присъствието на dsDNA интеркалиращо флуоресцентно багрило. Багрилото не взаимодейства с ssDNA, но активно се интеркалира с dsDNA и флуоресцира ярко при интеркалиране. Промяната във флуоресценцията може да се използва за измерване на повишаването на концентрацията на ДНК по време на PCR и след това за директно измерване на термично индуцираното топене на ДНК при HRM. По време на HRM, първоначално флуоресценцията е висока, тъй като пробата е dsDNA. Флуоресценцията намалява с повишаване на температурата и ДНК се дисоциира на единични вериги. Наблюдаваното поведение на топене е характерно за конкретна ДНК проба.

Използвайки HRM, Rotor-Gene Q MDx може да характеризира проби въз основа на дължината на последователността, съдържанието на GC и комплементарността на ДНК последователността. HRM може да се използва в приложения за генотипиране, като анализ на инсерции/делеции или единични нуклеотидни полиморфизми (Single Nucleotide Polymorphism, SNP), както и за скрининг за неизвестни генетични мутации. Може да се използва и в приложения за епигенетика за откриване и анализ на състоянието на метилиране на ДНК. Може също да се използва за количествено откриване на малка част от вариантна ДНК на фона на последователност от див тип при чувствителност, достигаща 5%. Това може да се използва например за изследване на соматично придобити мутации или промени в състоянието на метилиране на CpG острови.

HRM на Rotor-Gene Q MDx улеснява множество приложения, включително:

- откриване на възможни гени за предразположение;
- асоциативни проучвания (сравняване на случаи с контроли, генотип с фенотип);
- определяне на преобладаващи алели в популация или подгрупа;
- скрининг и валидиране на SNP;
- скрининг за загуба на хетерозиготност;
- ДНК идентификация;
- характеризиране на хаплотипови блокове;
- анализ на ДНК метилиране;
- ДНК картиране;
- идентификация на видове;
- откриване на мутации;
- измерване на нивото на придобити мутации;
- HLA типизиране.

HRM е по-лесен и по-рентабилен от анализите за генотипиране чрез сонди, и за разлика от конвенционалните методи, представлява затворена система, която предотвратява замърсяването с PCR продукти. Резултатите са сравними с конвенционални методи като SSCP, DHPLC, RFLP и ДНК секвениране.

## 10.1 Инструментариум

Rotor-Gene Q MDx предоставя следните възможности за анализ в реално време и възможности за термооптичен анализ, необходими за извършването на HRM.

- осветяване с висок интензитет;
- високочувствително оптично откриване;
- бързо получаване на данни;
- фин контрол върху температурата на пробата;
- минимални термични и оптични вариации между пробите.

## 10.2 Химия

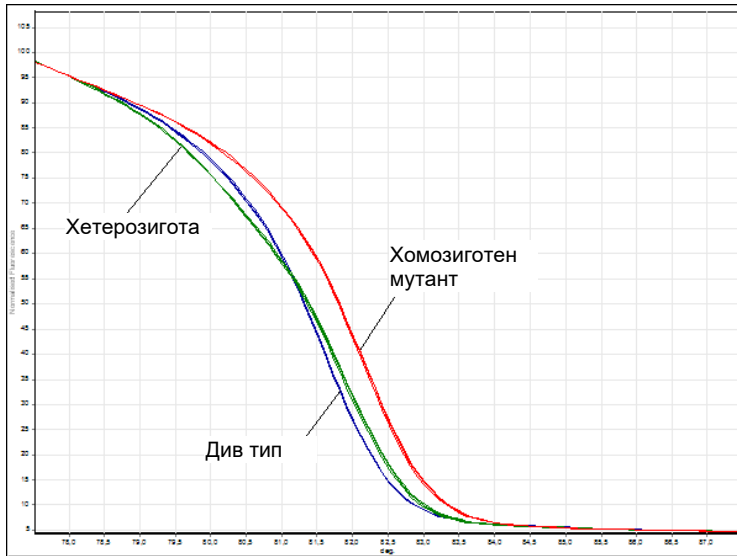
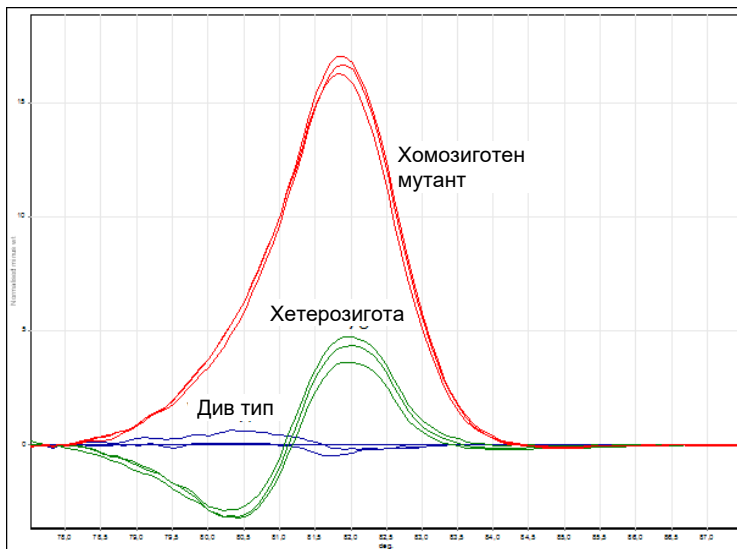
QIAGEN предлага набора Type-it® HRM PCR Kit за анализ на SNP и мутации чрез HRM и набора EpiTect® HRM PCR Kit за анализ на метилиране. И двата набора съдържат трето поколение, интеркалиращо флуоресцентно багрило EvaGreen. Наборите комбинират оптимизиран HRM буфер и HotStarTaq® Plus DNA Polymerase, за да се избегнат неспецифични продукти за амплификация и да се осигурят надеждни резултати.

**Забележка:** Всички набори QIAGEN HRM и реактиви са подходящи за използване с апарати Rotor-Gene Q само за приложенията, описани в наръчниците за съответните набори на QIAGEN.

## 10.3 Пример за генотипиране на SNP

В показания пример наборът Type-it HRM PCR Kit е използван в анализа на HRM за разграничаване между хомозиготен див тип, хомозиготен мутантен и хетерозиготен вариант на човешкия SNP rs60031276. За технически подробности вижте *Наръчника за Type-it HRM PCR*.



**A****B**

**B**

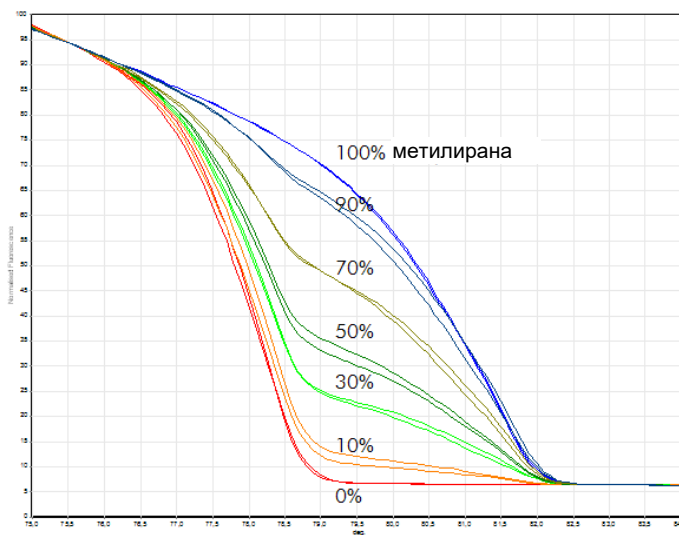
HRM Results - HRM A.HRM (Page 1)				
No.	C	Name	Genotype	Confidence %
22		AA Human SNP rs60031276	homo AA	100,00
23		unknown	homo AA	99,49
24		unknown	homo AA	99,76
28		AG Human SNP rs60031276	hetero AG	100,00
29		unknown	hetero AG	99,49
30		unknown	hetero AG	98,47
34		GG Human SNP rs60031276	homo GG	100,00
35		unknown	homo GG	98,80
36		unknown	homo GG	99,53

**SNP генотипирание чрез HRM.** Анализирани са човешки SNP rs60031276 (заместване от А до G) в гена PPP1R14B (протеин фосфатаза 1, регулаторна (инхибиторна) субединица 14В) на Rotor-Gene Q, използвайки 10 ng геномна ДНК от различни генотипи и набора Туре-it HRM Kit. Пробите от хомозиготен див тип (AA), хомозиготен мутант (GG) и хетерозигота (AG) са показани чрез **A** (стандартна нормализирана крива на толене) и **B** (диференциална диаграма, нормализирана към проби от див тип). **B** Генотиповете за непознатите проби са определени от софтуера Rotor-Gene Q.

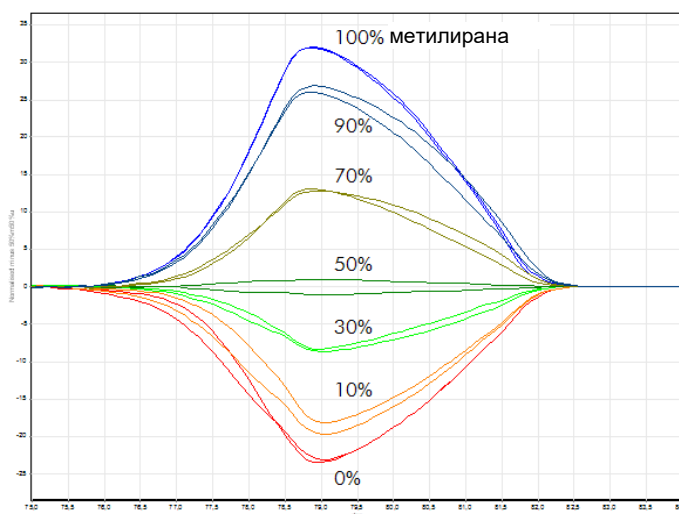
## 10.4 Пример за анализ на метилиране

В показания пример наборът EpiTect HRM PCR Kit е използван в HRM анализ за разграничаване на различни съотношения на метилирана и неметилирана ДНК. За технически подробности вижте *EpiTect HRM PCR Handbook*.

**A**



**B**



**Количествен анализ на метилиране чрез HRM.** Различни нива на метилирана и неметилирана ДНК-APC (аденоматоза полипоза коли) са анализирани и дискриминирани чрез HRM анализ на метилиране на Rotor-Gene Q с помощта на набора EpiTect HRM Kit. Показани са **A** – стандартна нормализирана крива на топене и **B** – диаграма на разликата, нормализирана към 50% метилирана проба.

## 10.5 Насоки за успешен анализ на HRM

Успехът на HRM анализа зависи до голяма степен от конкретната последователност, която се изследва. Определени мотиви на последователността като примка за фиби или други вторични структури, локализиращи региони с необичайно високо или ниско съдържание на GC или повтарящи се последователности, могат да повлияят на резултата. В допълнение използването на стандартизирани набори и оптимизирани протоколи на QIAGEN може да преодолее много от изброените потенциални предизвикателства. Някои прости насоки за гарантиране на успеха са описани подробно по-долу.

### **Анализирайте къси ДНК фрагменти**

Анализирайте фрагменти не по-големи от около 250 bp. По-големите продукти могат да бъдат анализирани успешно, но обикновено осигуряват по-ниска разделителна способност. Това е така, защото, например, една вариация на една база има по-изразен ефект върху топенето на ампликон от 100 bp, отколкото при такъв от 500 bp.

### **Уверете се, че PCR съдържа само специфичния продукт**

Проби, замърсени с артефакти след PCR, като димери на праймери или неспецифични продукти, могат да направят резултатите от HRM трудни за интерпретация. Наборите на QIAGEN за HRM анализ осигуряват максимална специфичност без нужда от оптимизация.

### **Използвайте достатъчен шаблон за предварителна амплификация**

Анализът на данни от real-time PCR може да бъде много полезен при отстраняване на проблеми при HRM анализи. Графиките за амплификация трябва да имат  $C_t$  (граничен цикъл) по-малък или равен на 30 цикъла. Продуктите, които се амплифицират по-късно (поради ниско начално количество шаблон или неговата деградация), обикновено дават променливи резултати на HRM поради наличието на PCR артефакти.

### **Нормализирайте концентрацията на шаблона**

Количеството шаблон, добавен към реакцията, трябва да бъде постоянно. Нормализирайте началните концентрации, така че всички графики на усилване да са в рамките на три  $C_t$  стойности. Това гарантира, че входните концентрации са в 10-кратен диапазон.

### **Проверете за отклоняващи се графики на усилване**

Преди да стартирате HRM, проверете внимателно данните от графиката за усилване за отклонения в кривите. Графики с логаритмична линейна фаза, която не е стръмна, а назъбена или която достига ниско плато на сигнала в сравнение с други реакции, могат да показват лошо усилване или флуоресцентен сигнал, който е твърде нисък (например това може да се случи ако концентрацията на праймера е твърде ниска). Слабите реакции могат да бъдат причинени от инхибитори на реакцията или нейната неправилна настройка. Данните за HRM от такива проби могат да бъдат неубедителни или с ниска разделителна способност. За да избегнете ненадеждни резултати, препоръчваме наборите на QIAGEN за подготовка на пробата и анализ на HRM.

### **Поддържайте концентрациите на пробата след амплификация сходни**

Концентрацията на даден ДНК фрагмент влияе върху неговата температура на топене ( $T_m$ ). Поради тази причина концентрациите на ДНК в пробата трябва да се поддържат възможно най-сходни. Когато анализирате PCR продуктите, уверете се, че всяка реакция е амплифицирана до фазата на плато. При плато всички реакции ще се усилят до подобна степен, независимо от началното им количество. Имайте предвид обаче, че слабите реакции може да не достигнат плато при същото количество поради, например, непоследователна настройка на анализа (например ако концентрацията на праймера е твърде ниска).

### **Осигурете еднородност между пробите**

Всички проби трябва да са с еднакъв обем и да съдържат еднаква концентрация на багрило. Топенето на ДНК се влияе от солите в реакционната смес, така че е важно концентрацията на буфера, Mg и други соли да е възможно най-равномерна във всички проби. Аналогично използвайте само идентични реакционни епруветки от същия производител, за да избегнете вариации поради различия в дебелината на пластмасата и автофлуоресцентните им свойства.

### **Позволете събирането на достатъчно данни за фазите преди и след топене**

Отчитайте точки от данни за HRM на разстояние от приблизително  $10^{\circ}\text{C}$  около  $T_m$  (вижте фигурата на стр. 10). Това осигурява достатъчно точки от базови данни за ефективно нормализиране на кривата и ще доведе до по-възпроизводими репликации и по-лесно интерпретиране на данните.

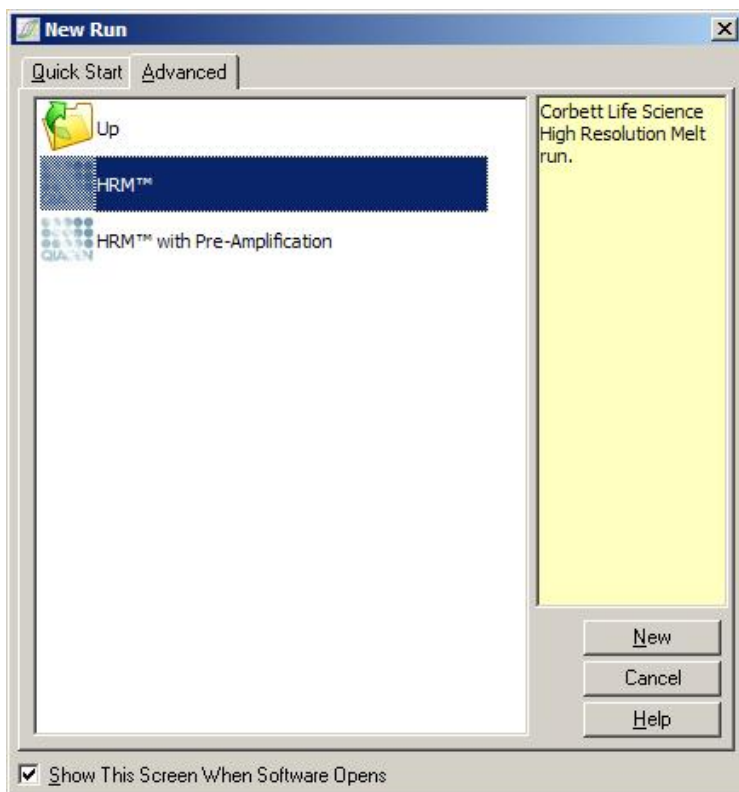
## 10.6 Подготовка на пробите

При пречистването и съхранението на пробите трябва да се избегне деградацията им. Избягвайте прекомерни количества инхибитори, като например остатъци от етанол. За подобряване на резултатите от HRM препоръчваме използването на сходни количества шаблон за различните проби. Препоръчва се спектрофотометричен анализ за определяне на концентрацията и чистотата на ДНК. Препоръчваме набори на QIAGEN за подготовка на пробата.

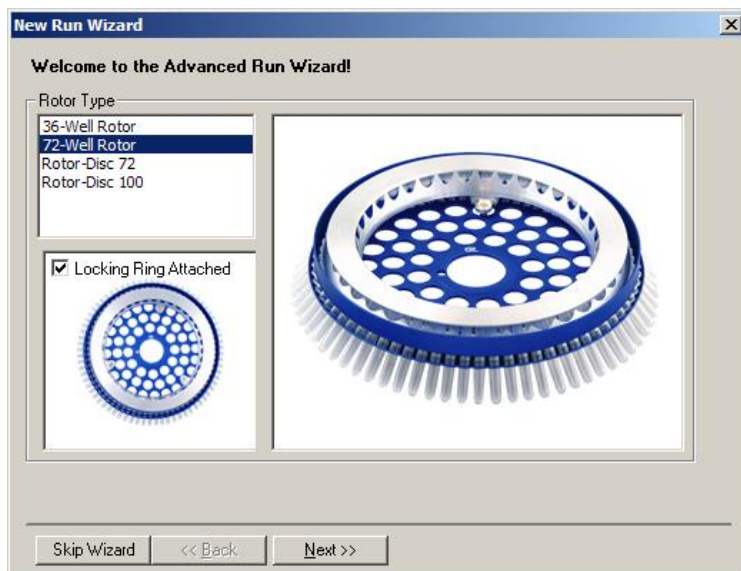
**Забележка:** При 260 nm една абсорбционна единица е равна на 50 µg/ml ДНК. Чистата ДНК ще осигури съотношение 260 nm към 280 nm от 1,8.

## 10.7 Настройка на софтуера

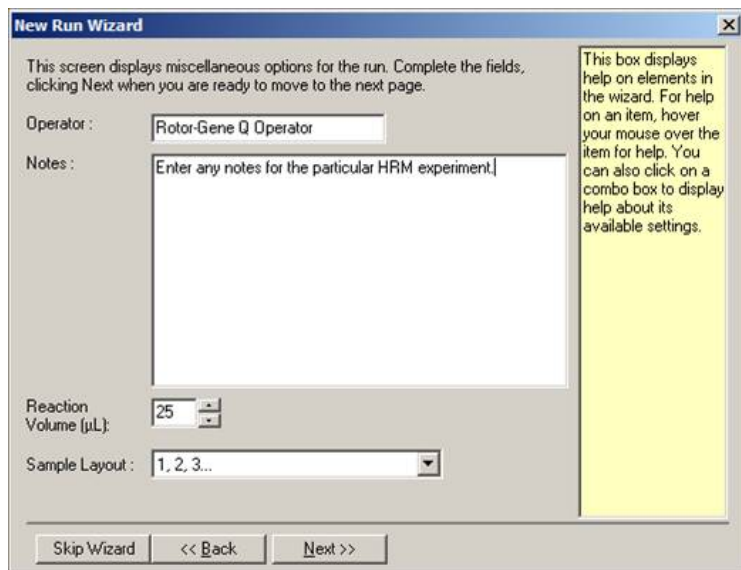
1. Отворете нов файл за изпълнение, като изберете **New...** (Нов...) от менюто **File** (Файл). В разширения съветник изберете **HRM**.



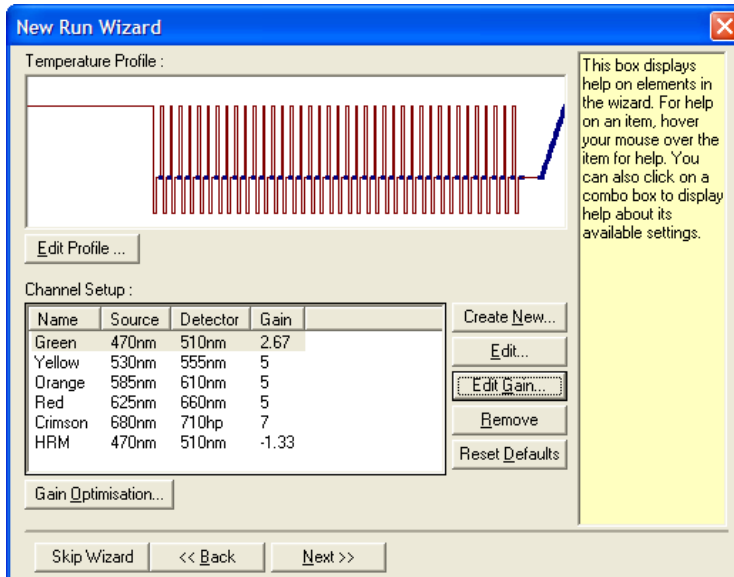
2. Задайте типа на ротора (в този пример е използван 72-Well Rotor). Уверете се, че фиксиращият пръстен е на място и квадратчето за отметка **Locking Ring Attached** (Поставен фиксиращ пръстен) е отметнато, преди да продължите към следващата стъпка.



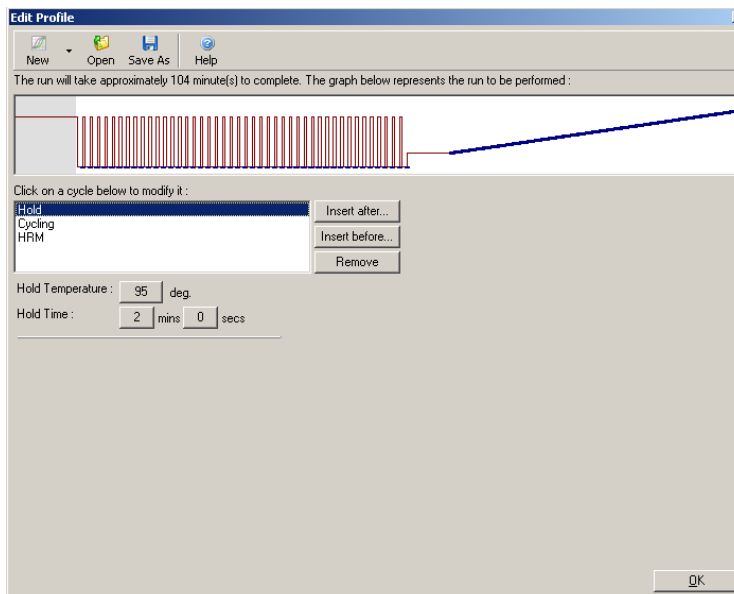
3. Задайте подробностите за цикъла. Въведете името на оператора (по избор) и добавете всички бележки за цикъла (по избор). Изберете реакционния обем (задължителен) и желаната конфигурация на пробата.



4. Кликнете върху бутона **Edit Profile...** (Редактиране на профил...), за да промените времената и температурите на реакцията.

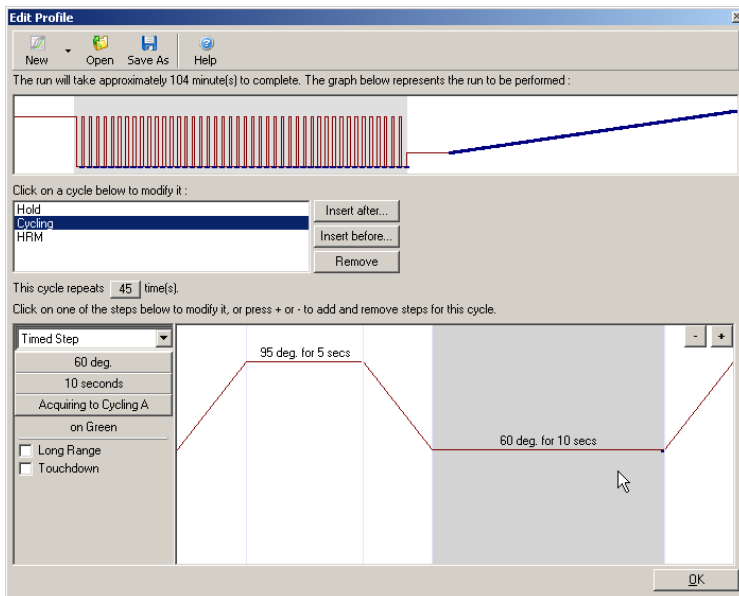


5. Задайте подходящо първоначално време на задържане. Това време зависи от типа на използваната ДНК полимераза. Наборите Type-it HRM PCR Kit и EpiTect HRM PCR Kit изискват 5 минути време за активирание. Времето за активирание по подразбиране е 10 минути.

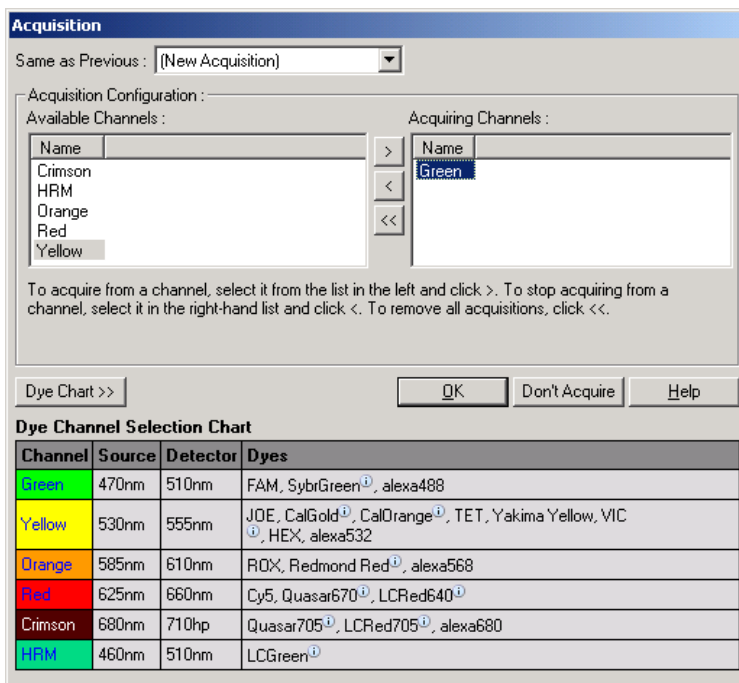




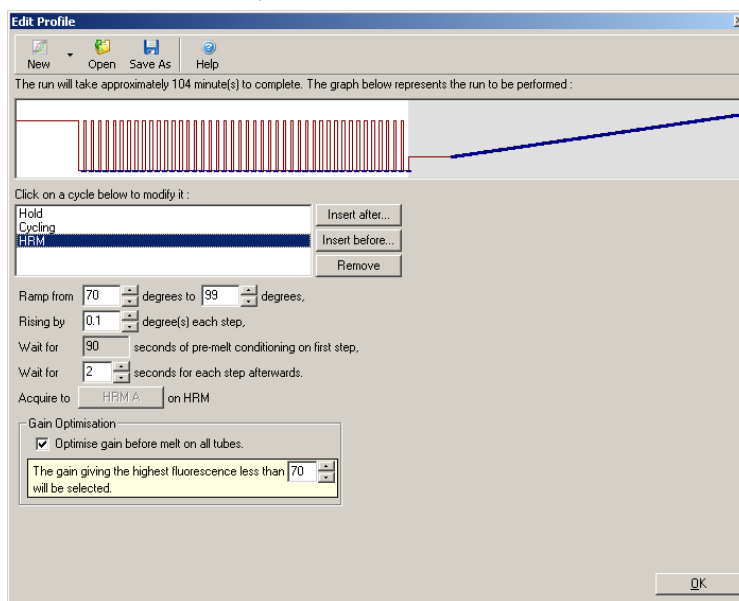
6. Променете цикъла, за да отговаря на ампликона.



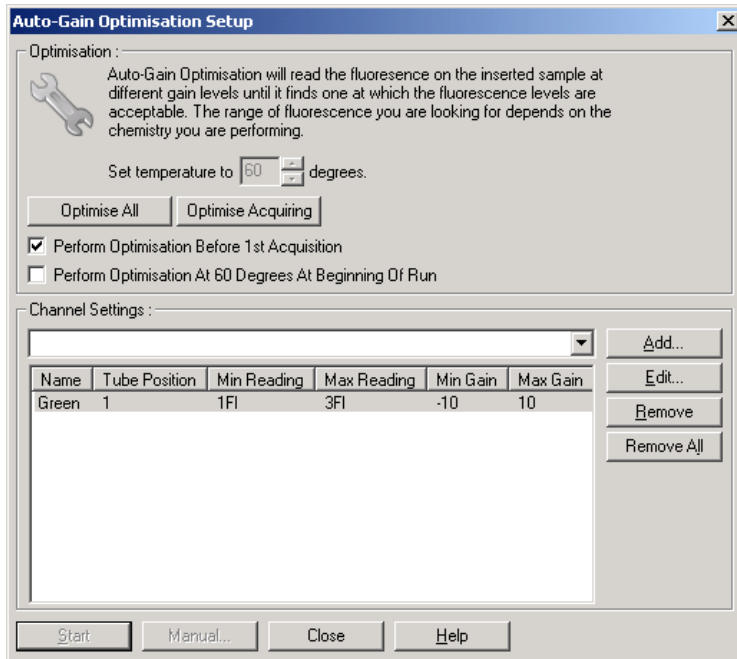
7. Уверете се, че флуоресценцията ще бъде отчетена. Получавайте данни по зеления канал в края на стъпката на отгряване.



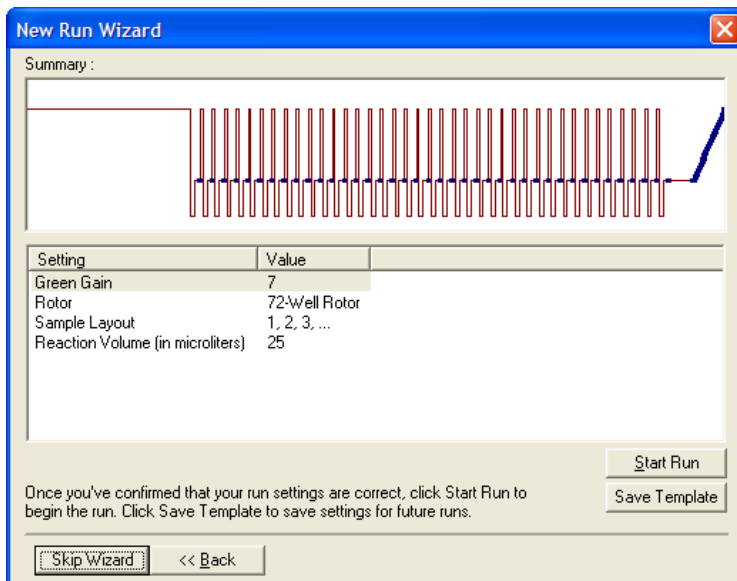
8. Задайте условия за работа на HRM. Променете условията, за да отговарят на ампликона. За първия набор от експерименти използвайте широк обхват на топене. Използвайте теоретичната  $T_m$  като насока за подходящия диапазон. След като определите къде ще протече топенето на продукта, намалете обхвата на топене до не повече от 10°C. Уверете се, че началото на топенето настъпва 5°C преди първия преход на топене. Стъпката по подразбиране е настроена на 0,1°C със задържане от 2 секунди на всяка стъпка. Минималната стъпка е 0,05°C с второ задържане на всяка стъпка. Данните се получават автоматично от канала за HRM. Автоматичната оптимизация на усилването се извършва по подразбиране. Софтуерът ще търси оптималната настройка на усилване, така че най-високата отчетена стойност на флуоресценция да не е по-голяма от 70 единици по скала от 100. Имайте предвид, че максимумът може да бъде настроен до 100.



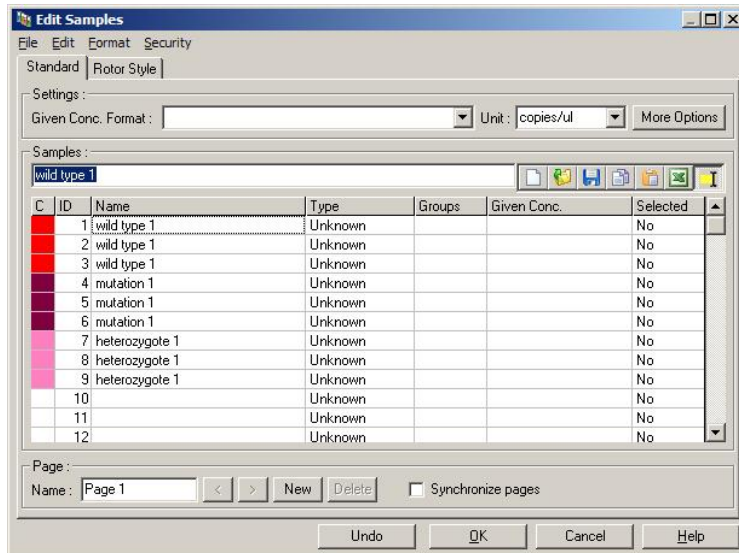
9. Незадължително: Задайте автоматична оптимизация на усилването. Тя се отнася само за стъпката на усилване в реално време и е зададена за зеления канал. Кликнете върху бутона **Optimize Acquiring** (Оптимизиране на получаването) (за да оптимизирате само използваните канали). Оптимизацията се извършва най-добре точно преди първата стъпка на получаване, така че поставете отметка в квадратчето **Perform Optimization Before First Acquisition** (Извършване на оптимизация преди първото получаване). Препоръчителният диапазон на фоновата флуоресценция за интеркалиращи багрила е между 1 и 3 флуоресцентни единици. За да промените тази настройка, кликнете върху името на канала, за да го изберете в списъка, и след това кликнете върху бутона **Edit** (Редактиране).



10. Стартирайте цикъла, като кликнете върху **Start Run** (Стартиране на цикъла) и запишете файла за цикъла на вашия компютър.



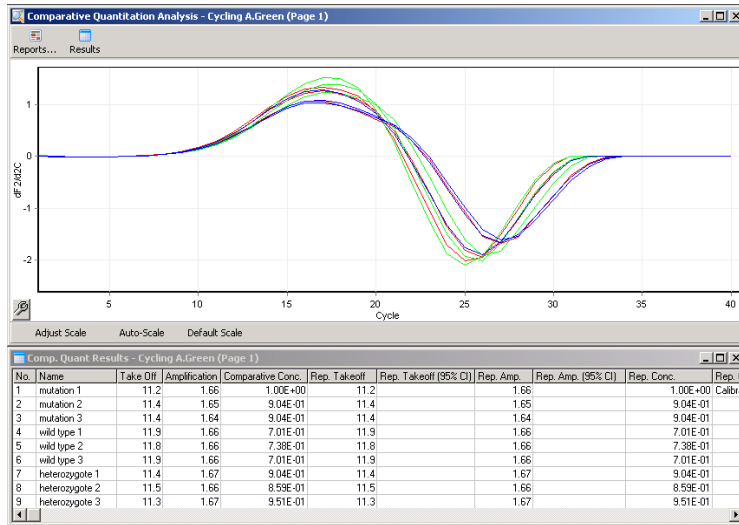
11. Редактирайте имената на пробите (незадължително). Имената на пробите могат да бъдат редактирани по време на или след цикъла.



## 10.8 Анализ на данните от real-time PCR

Анализът на данните от real-time PCR преди анализа на данните от HRM си има своите предимства. Данните от real-time PCR могат да подчертаят слабо представящите се анализи. Идентифицирането на тези отклонения и филтрирането им от последващ HRM анализ значително ще подобри цялостната ефективност на HRM анализа, тъй като анализирането на некачествен PCR продукт ще доведе до слаби резултати от HRM. Препоръчваме да анализирате количествените данни от real-time PCR, както следва.

1. Анализирайте данните в реално време, като използвате опцията **Quantitation** (Количествено определяне) от прозореца **Analysis** (Анализ). Ако стойностите на  $C_T$  са 30 или по-високи, се счита, че съответните реакции са се усилени твърде късно. Тези проби трябва да бъдат анализирани със съмнение или да бъдат премахнати от анализа като отклонение. Късното усилване обикновено се дължи на твърде малко първоначално количество шаблон и/или високи нива на деградация на пробата.
2. Оценете нивото на флуоресценция в крайната точка. Ако флуоресценцията на крайната точка в някоя от графиките на усилване е ниска в сравнение с повечето графики в набора от данни, изключете тези проби от анализа, дори ако тяхната  $C_T$  стойност е по-малка от 30. Ниската флуоресценция в крайната точка може да показва неправилно количество багрило, неправилни нива на реакционните компоненти (като праймери) или действието на инхибитори.
3. Използвайте опцията **Comparative Quantitation** (Сравнително количествено определяне) от прозореца **Analysis** (Анализ), за да получите ефективността на реакцията на всяка проба. Ако ефективността не е подобна на другите реакции в експеримента или е по-малка от приблизително 1,4, изключете реакцията като отклонение.



**Сравнителни количествени резултати.** Ефективността на реакцията е показана в колоната „Amplification“ (Усилване) като резултат от 2 (2 = 100% ефективност).

**Забележка:** Ако подозирате наличието на димери на праймери или неспецифични продукти, оценете реакциите чрез производна диаграма, като използвате опцията **Melt** (Топене) от прозореца **Analysis** (Анализ). Уверете се, че за всеки продукт има по един съответстващ пик. Ако е възможно, пуснете гел, за да проверите това. Ако има повече от един продукт, реакцията трябва да се повтори или да се оптимизира отново.

## 10.9 Анализ на данни от HRM

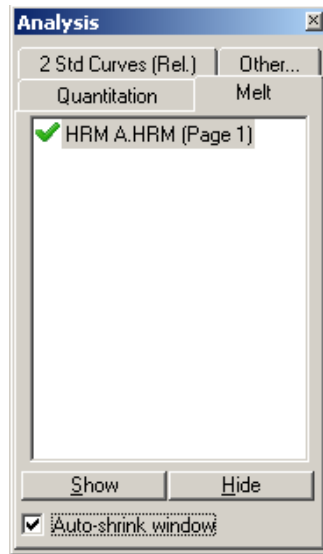
HRM анализът позволява както визуално, така и автоматично съобщаване на генотипи. Резултатите могат да са под формата на нормализирана крива на топене и диференциална диаграма. Нормализираните криви осигуряват основното представяне на различните генотипи въз основа на изместване на кривата (за хомозиготи) и промяна на формата на кривата (за хетерозиготи).

Диференциалните диаграми са помощно средство за визуална интерпретация. Те изобразяват разликата във флуоресценцията на пробата спрямо избрана контрола при всеки температурен преход. Тези диаграми предоставят алтернативен изглед на разликите между преходите на кривата на топене.

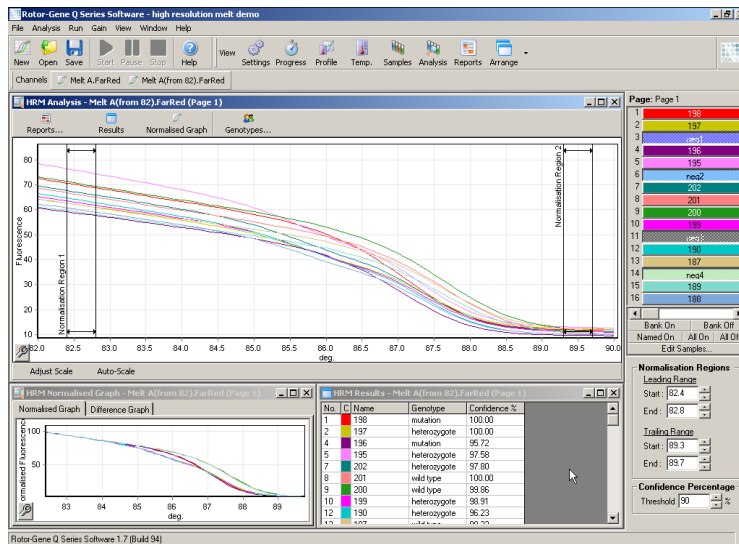
**Забележка:** Анализът на кривата топене по първата производна (чрез стандартната опция **Melt** (Топене) в прозореца **Analysis** (Анализ)) се счита за неподходящ за HRM анализа. Това е така, защото всяко извличане на данните добавя изкуствен шум и прави интерпретацията на данните по-трудна.

Следващите стъпки описват анализа на резултатите от HRM с помощта на софтуера Rotor-Gene Q.

1. Изберете опцията **HRM** от прозореца **Analysis** (Анализ).

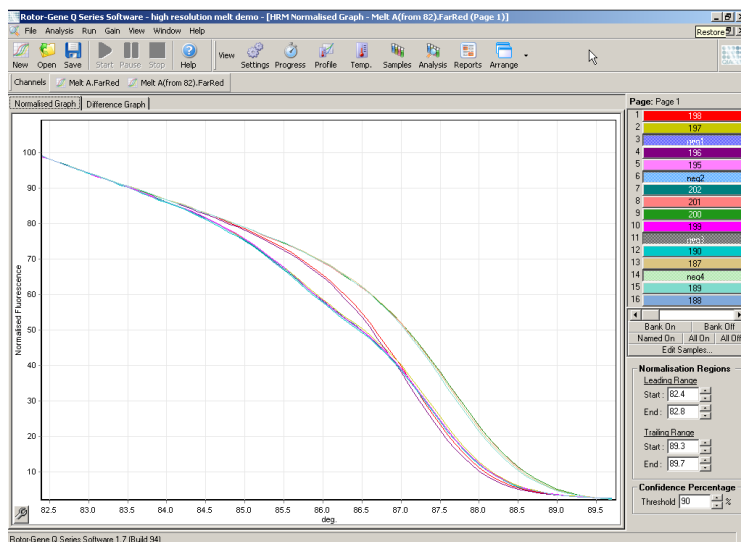


2. Появяват се прозорци, показващи необработените данни, нормализираната графика и резултатите. Прозорецът с необработени данни позволява регулиране на участъците на нормализиране. Нормализирането позволява на всички криви да се сравняват с едно и също начално и крайно ниво на флуоресцентния сигнал, за да се подпомогне интерпретацията и анализа. Предоставени са два курсора на участък, обикновено в краищата на кривата. Точките от данни в рамките на участъците се използват за нормализиране на флуоресценцията (само оста y) в началото (област 1) и края (област 2) на графиката на топене. Данните извън зададените участъци се игнорират. Коригирайте участъците, за да обхванете представителни базови данни за фазите преди и след топенето. Разширяването на участъка (чрез клиकване и плъзгане) позволява на софтуера да коригира наклона на базовата линия. За да осигурите ефективно нормализиране на кривите, избягвайте разширяването на областите на нормализиране по време на фазата на топене.

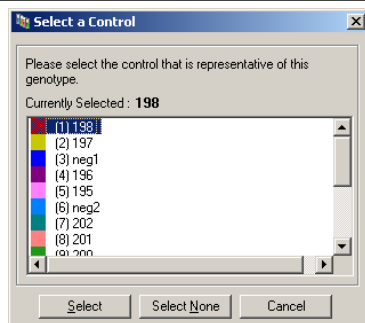
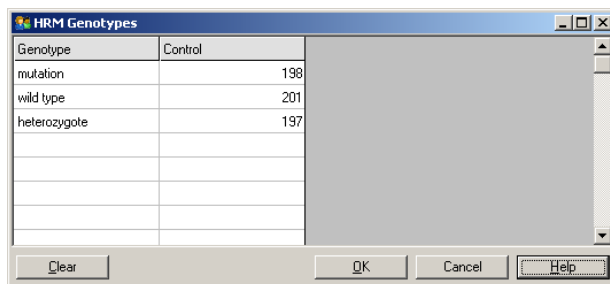


**Забележка:** Препоръчваме курсорите да се местят само ако искате да избегнете участъци от кривата на топене. Движението на курсорите в посока преходите по време на фазата на топене може да повлияе на графиките на изваждане и доверителния интервал.

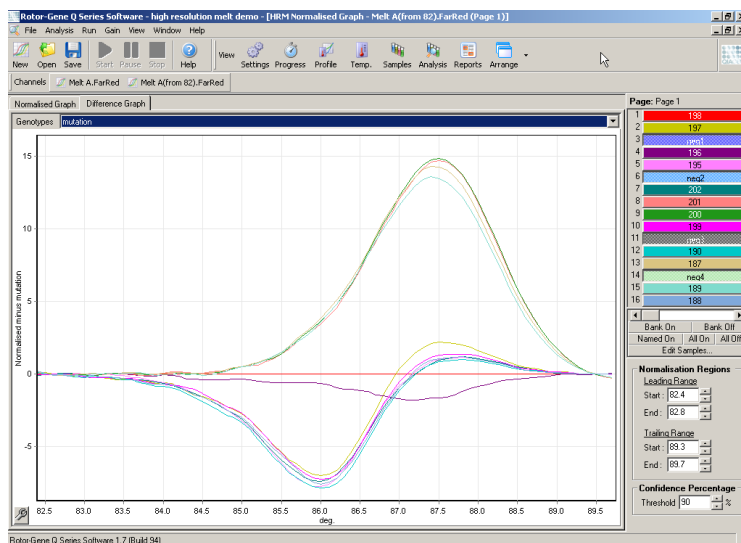
- Прозорецът **Normalised Graph** (Нормализирана графика) показва нормализираните криви на топене. Пробите могат да се разглеждат и като диференциални диаграми спрямо дадена контрола.



- Кликнете върху бутона **Genotypes...** (Генотипи...), за да дефинирате генотипа. Въведете името на всяка категория генотип и изберете представителна проба от списъка с проби.



5. Прегледайте разликата, като изберете раздела **Difference Graph** (Графика на разликата). След това изберете генотипа, с който искате да сравните всички други проби, като използвате падащото меню в горната част на прозореца. В показания пример всички проби са нанесени и извадени от средната диаграма за групата **Mutation 1** (Мутация 1).



6. Генотипите ще бъдат генерирани автоматично от софтуера в прозореца **Results** (Резултати). Дадена е доверителна стойност за проверка на цялостта на тези резултати. Стойността на прага, над която се извършват автоматично генериране, може да се редактира. Пробите под зададения праг ще бъдат маркирани като вариации за по-внимателно изследване или повторно тестване.

No.	C	Name	Genotype	Confidence %
1	198	mutation	mutation	100.00
2	197	heterozygote	heterozygote	100.00
4	196	mutation	mutation	95.72
5	195	heterozygote	heterozygote	97.58
7	202	heterozygote	heterozygote	97.80
8	201	wild type	wild type	100.00
9	200	wild type	wild type	99.86
10	199	heterozygote	heterozygote	98.91
12	190	heterozygote	heterozygote	96.23
13	187	wild type	wild type	99.23
15	189	wild type	wild type	97.59

**Normalisation Regions**

**Leading Range**  
 Start: 82.4  
 End: 82.8

**Trailing Range**  
 Start: 89.3  
 End: 89.7

**Confidence Percentage**  
 Threshold: 90 %



## 11 Отстраняване на проблеми

Този раздел предоставя информация за това какво да направите, ако възникне грешка при използване на Rotor-Gene Q MDx System.

Ако имате нужда от допълнително съдействие, се обърнете към „Техническо обслужване“ на QIAGEN, като използвате информацията за контакт по-долу:

Уебсайт: **support.qiagen.com**

Преди да се обърнете към отдела за техническо обслужване на QIAGEN за грешки в Rotor-Gene Q MDx, запишете операциите, довели до грешката, и информацията от евентуалните диалогови прозорци. Тази информация ще помогне на „Техническо обслужване“ на QIAGEN да реши проблема.

Преди да се обърнете към „Техническо обслужване“ на QIAGEN за грешки, пригответе следната информация:

- Сериен номер, тип и версия на Rotor-Gene Q MDx
- версия на софтуера (ако е приложимо);
- Моментът от време, в който е възникнала грешката за пръв път
- Колко често възниква грешката (т.е. периодична или постоянна грешка)
- подробно описание на грешката;
- снимка на грешката, ако е възможно;
- Копие от регистрационните файлове

Тази информация ще помогне на вас и вашия специалист от отдела за техническо обслужване на QIAGEN да се справите най-ефективно с вашия проблем.

**Забележка:** Информация за най-новите версии на софтуера и протокола можете да намерите на адрес **www.qiagen.com**. В някои случаи може да са налични актуализации за решаване на конкретни проблеми.

## 11.1 Log архиви

Софтуерът съхранява немодифициран запис на всеки цикъл и диагностична информация в хранилището си за Log архиви. Можете да изпратите имейл заедно с цялата необходима диагностична информация до отдела за техническо обслужване на QIAGEN, като използвате опцията **Send Support Email** (Изпращане на имейл за поддръжка) в менюто **Help** (Помощ) (вижте раздел 6.12.1).

За да се спести дисково пространство, се съхраняват само архивите на регистрационните файлове от 60-те най-скорошни стартирания. По-старите Log архиви се презаписват при създаването на нови.

## 11.2 Хардуерни и софтуерни грешки

### 11.2.1 Отстраняване на проблеми при HRM

	Коментари и предложения
<b>Невъзможност да се стартира HRM</b>	
Моделът Rotor-Gene Q MDx не е оборудван с HRM	Свържете се с местния представител на QIAGEN.
<b>Не се получават данни от HRM</b>	
Неправилна настройка	Проверете настройките на филтъра. Проверете дали типът на ротора е правилен. Проверете дали са използвани правилните реактиви. Проверете дали реакцията е настроена правилно. Провеждане на експеримент с положителна контрола (т.е. анализ, за който е известно, че дава резултати).
<b>Графиките изглеждат наизбени</b>	
Ниска или никаква амплификация	Проверете дали са използвани правилните протоколи и реактиви. Препоръчваме набори на QIAGEN за HRM анализ. Проверете дали реакцията е настроена правилно. Проверете условията за циклизиране. Проверете началното качество и количеството на шаблона. Препоръчваме набори на QIAGEN за подготовка на пробата.
<b>Сатурирани графиките на усилване или топене</b>	
Усилването е зададено твърде високо	Използвайте <b>Auto-Gain Optimization</b> (Автоматична оптимизация на усилването) (вижте стр. 65).
<b>Променени доверителните интервали</b>	
Участъците за нормализиране са преместени чрез кликване и плъзгане	Местете участъците за нормализиране само ако е необходимо да се избегнат части от кривата на топене.
<b>В данните са налице отклонения</b>	
Непоследователна настройка на реакцията	Проверете дали са използвани правилните реактиви. Проверете дали използваните епруветки са еднакви. Проверете дали е била използвана една и съща основна смес за всички проби.
Наличие на инхибитори в пробата	Проверете началното качество и количеството на шаблона.
Твърде малък или деградиран шаблон	Проверете началното качество и количеството на шаблона.

## 11.3 Съобщения за грешки и предупреждения

### 11.3.1 Общи грешки в апарата

Съобщение за грешка	Коментари и предложения
<b>Can't open the serial port &lt;COMPORT&gt;</b> (Не може да се отвори серийният порт <COMPORT>)	<p>Тази грешка възниква при стартиране на софтуера, ако софтуерът не може да комуникира с апарата през конфигурирания COM порт. Това обикновено се причинява от дефектни кабели, разхлабени кабели, дефектни серийни портове, дефектни USB портове, проблем с USB драйвер или проблем с драйвер за USB към сериен конвертор.</p> <p>Свържете отново или сменете кабела. Преинсталирайте съответните драйвери. Стартирайте софтуера във <b>Virtual Mode</b> (Виртуален режим) и изберете бутон <b>Setup/Auto-Detect</b> (Настройка на автоматичното откриване) от менюто <b>File</b> (Файл), за да нулирате конфигурирания COM порт.</p>
<b>Chamber lid open</b> (Капакът на камерата е отворен) Could not continue run; the chamber lid was opened during a run. Please reset the machine, and restart the software. (Цикълът не можа да продължи; капакът на камерата е отворен по време на работа. Моля, нулирайте апарата и рестартирайте софтуера.)	<p>Тази грешка възниква, когато софтуерът е установил, че капакът е отворен по време на цикъл.</p> <p>Нулирайте апарата и рестартирайте софтуера.</p>
<b>Chamber lid open</b> (Капакът на камерата е отворен) The instrument chamber lid is open. Please close the lid and then click Continue. (Капакът на камерата на апарата е отворен. Моля, затворете капака и след това кликнете върху Continue (Продължаване).)	<p>Тази грешка възниква, когато потребителят се опита да започне цикъл, докато капакът на апарат е отворен.</p> <p>Затворете капака на апарата и след това кликнете върху <b>Continue</b> (Продължаване).</p>
<b>Communication corrupted</b> (Комуникацията е нарушена)	<p>Тази грешка възниква, когато данните, получени от апарата, не съответстват на очаквания модел.</p> <p>Необходими са допълнителни изследвания от сертифициран специалист на QIAGEN по обслужване на място, който да диагностицира проблема с апарата.</p> <p>Моля, свържете се с вашия дистрибутор или отдела за техническо обслужване на QIAGEN.</p>
<b>Communication out of sequence</b> (Непоследователна комуникация) Instrument has received data from the machine that is out of sequence. (Апаратът е получил данни от машината, които са непоследователни.)	<p>Тази грешка възниква, когато данните, получени от апарата, не са в очакваната последователност.</p> <p>Необходими са допълнителни изследвания от сертифициран специалист на QIAGEN по обслужване на място, който да диагностицира проблема с апарата.</p> <p>Моля, свържете се с вашия дистрибутор или отдела за техническо обслужване на QIAGEN.</p>
<b>Communication protocol error</b> (Грешка в комуникационния протокол) A communication protocol error occurred with this run. (По време на цикъла възникна грешка в комуникационния протокол.)	<p>Тази грешка възниква, когато комуникационният протокол, конфигуриран във фирмуера, не е същият като очаквания протокол.</p> <p>Необходими са допълнителни изследвания от сертифициран специалист на QIAGEN по обслужване на място за диагностициране на проблема с комуникационния протокол или апарата.</p>
<b>Detector motor jam, stopped machine</b> (Задръстване на детектора на мотора, спиране на апарата)	<p>Тази грешка може да възникне, когато Rotor-Gene Q MDx се стартира веднага след доставката в райони със студен климат.</p> <p>В този случай оставете апарата да се аклиматизира към стайната температура поне за един час, преди да го включите.</p> <p>Ако грешката продължава, моля, свържете се с местния дистрибутор или отдела за техническо обслужване на QIAGEN.</p>

Съобщение за грешка	Коментари и предложения
<p><b>Fatal hardware malfunction</b> (Фатална хардуерна неизправност)</p> <p>The instrument detected that there was a fatal hardware malfunction. Do not attempt to re-use the machine until the machine has been serviced by your distributor. (Апаратът установи, че е налице фатална хардуерна неизправност. Не се опитвайте да използвате повторно машината, докато не бъде обслужена от вашия дистрибутор.)</p>	<p>Тази грешка възниква, когато софтуерът е открил фатална хардуерна неизправност и е активирал процедура за безопасна защита, за да изключи машината.</p> <p>Ако грешката продължава, незабавно изключете апарата и се свържете с местния дистрибутор или отдела за техническо обслужване на QIAGEN.</p>
<p><b>Machine error</b> (Грешка в машината)</p> <p>This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from. Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file. (Този цикъл е спрял поради възникнали грешки в машината, които не могат да бъдат изправени. Моля, свържете се с местния дистрибутор, ако това се случи отново, като прикачите архивен файл за поддръжка.)</p>	<p>Тази грешка възниква, когато софтуерът е открил грешки в машината, които не могат да бъдат изправени. Софтуерът е спрял цикълът.</p> <p>Опитайте да стартиране нов цикъл. Ако проблемът продължава, свържете се с местния дистрибутор или отдела за техническо обслужване на QIAGEN, като прикачите архивен файл за поддръжка.</p>
<p><b>Machine unplugged</b> (Машината е изключена от контакта)</p> <p>The instrument is not responding and failed with the message &lt;ERROR MESSAGE &gt;. This is an unrecoverable failure, please reset the instrument and restart the software. (Апаратът не отговаря и след изчакването извежда съобщението &lt;СЪОБЩЕНИЕ ЗА ГРЕШКА&gt;. Това е невъзстановима повреда, моля, нулирайте апарата и рестартирайте софтуера.)</p>	<p>Тази грешка възниква, ако апаратът не комуникира със софтуера след определен интервал на изчакване. Често се причинява от повреда на апарата или от прекомерна активност от компютъра, което води до загуба на пакета.</p> <p>Честите причини, свързани със софтуера, включват задачи с интензивно натоварване на процесора, като резидентна антивирусна защита или планирани антивирусни сканирания, безжични или инфрочервени карти.</p> <p>Деактивирайте или деинсталирайте съответния(ата) интензивен(на) за процесора софтуер/задача.</p> <p>Нулирайте апарата и рестартирайте софтуера.</p> <p>Моля, свържете се с местния дистрибутор или отдела за техническо обслужване на QIAGEN ако проблемът продължава.</p>
<p><b>Machine unplugged</b> (Машината е изключена от контакта)</p> <p>The instrument is not connected to your computer on &lt;PORT NAME&gt;. Reconnect the serial cable to the back of the computer and then click Continue. (Апаратът не е свързан към порта &lt;ИМЕ НА ПОРТ&gt; на вашия компютър. Свържете отново серийния кабел към задната част на компютъра и след това кликнете върху Continue (Продължаване).)</p>	<p>Тази грешка възниква, когато серийната или USB комуникацията към апарата се загуби.</p> <p>Свържете отново серийния или USB кабела към задната част на компютъра и след това кликнете върху бутон <b>Continue</b> (Продължаване).</p>
<p><b>Object variable or with block variable not set</b> (Не е зададена обектна или блокова променлива)</p>	<p>Тази грешка възниква при стартиране на софтуера, ако файлът с шаблон на експеримента по подразбиране се е повредил. Това може да се случи, ако софтуерът/компютърът се изключи, без да се излезе от системата по надлежния ред, например по време на прекъсване на захранването.</p> <p>Изтрийте файла <b>C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\normal.ret</b> и след това рестартирайте софтуера.</p>
<p><b>Rotor speed failure</b> (Неизправност в оборотите на ротора)</p> <p>Time out while setting the rotor speed. (Невъзможност да се зададе целевата скорост в рамките на периода на изчакване.)</p>	<p>Тази грешка възниква, когато софтуерът се е опитал да зададе скоростта на ротора и не е успял да зададе целевата скорост в рамките на периода на изчакване.</p> <p>Необходими са допълнителни изследвания от сертифициран специалист на QIAGEN по обслужване на място, който да диагностицира проблема с апарата.</p> <p>Моля, свържете се с вашия дистрибутор или отдела за техническо обслужване на QIAGEN.</p>

## Съобщение за грешка

## Коментари и предложения

### **Serial port in use** (Използван е сериен порт)

The serial port is currently being used by another application. Close any applications such as communications or synchronization software and then retry. (Понастоящем серийният порт се използва от друго приложение. Затворете всички приложения като софтуера за комуникация или синхронизация и след това опитайте отново.)

### **Shutdown timeout** (Изтекло време за изчакване)

The instrument has exceeded the expected time to shutdown. Please reset the machine, and reset the software. (Апаратът е превишил очакваното време за изчакване. Моля, нулирайте апарата и софтуера.)

### **Temperature protection activated** (Температурната защита е активирана)

The instrument detected that the chamber temperature increased above a safe level. It has therefore entered a self-protection mode. Please turn off the instrument and contact your distributor if the problem persists. (Апаратът е установил, че температурата в камерата се е повишила над безопасното ниво. Поради това е влязъл в режим на самозащита. Моля, изключете апарата и се свържете с местния дистрибутор, ако проблемът продължава.)

### **Thermistor is open** (Термисторът е отворен)

The instrument detected that the thermistor is open, and so to prevent damage to the machine, it has been turned off. Please contact your distributor if this occurs again. (Апаратът установи, че термисторът е отворен и се изключва, за да предотврати повреда на машината. Моля, свържете се с местния дистрибутор, ако това се случи отново.)

### **Unrecoverable errors occurred** (Възникнаха невъзстановими грешки)

This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from. Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file. (Този цикъл е спрял поради възникнали грешки в машината, които не могат да бъдат изправени. Моля, свържете се с местния дистрибутор, ако това се случи отново, като прикачите архивен файл за поддръжка.)

Тази грешка възниква, когато софтуерът се опита да се свърже с машината чрез конфигурирания COM порт, когато портът се използва от друг софтуер.

Затворете всички приложения като софтуера за комуникация или синхронизация и след това опитайте отново.

Тази грешка възниква, когато софтуерът е издал команда за изключване на апарата и машината продължава да изпраща данни след очаквания период за изчакване.

Нулирайте апарата и рестартирайте софтуера.

Тази грешка възниква, когато софтуерът установи, че температурата в камерата се е повишила до над безопасното ниво и следователно активира процедура за безопасна защита.

Ако грешката продължава, незабавно изключете апарата и се свържете с местния дистрибутор или отдела за техническо обслужване на QIAGEN.

Тази грешка възниква, когато софтуерът е установил, че термисторът е отворен и следователно не може да отчита температурата; тогава софтуерът е активирал процедура за безопасна защита, за да изключи машината.

Ако грешката продължава, незабавно изключете апарата и се свържете с местния дистрибутор или отдела за техническо обслужване на QIAGEN.

Тази грешка се появява в средата на цикъл, след като софтуерът е направил всички възможни опити за възстановяване и те не са дали резултат.

Необходими са допълнителни изследвания от сертифициран специалист на QIAGEN по обслужване на място, който да диагностицира проблема с апарата.

Моля, свържете се с вашия дистрибутор или отдела за техническо обслужване на QIAGEN.

### 11.3.2 Съобщения от софтуера на Rotor-Gene Q

Следва списък със съобщения за употреба, предупреждения и други, които могат да се появят в софтуера Rotor-Gene по време на работа с хардуера и софтуера. Всяка част от съобщението, която е променлива, т.е. като описания на характерни грешки, е дадена в скоби (напр. <ОПИСАНИЕ НА ГРЕШКА>).

#### Текст на съобщението

##### Общи съобщения

- 1 A raw channel already exists for this page. If you would like to recreate this page, you must first delete the raw channel via the Options button and then try again. (Вече съществува канал с необработени данни за тази страница. Ако искате да създадете отново тази страница, първо трябва да изтриете канала с необработени данни чрез бутона Options (Опции) и след това да опитате отново.)
- 2 A serious problem has occurred which requires shutting down the software. After you click OK, your current work will be saved, and the machine will be turned off, if possible. If this problem persists, please contact your distributor. (Възникна сериозен проблем, който изисква изключване на софтуера. След като кликнете върху ОК, текущата ви работа ще бъде запазена и машината ще бъде изключена, ако е възможно. Ако този проблем продължава, моля, свържете се с местния дистрибутор.)
- 3 Cannot delete this page. There must always be at least one sample page. (Тази страница не може да бъде изтрита. Винаги трябва да има поне една страница за проба.)
- 4 Can't connect to instrument on serial port <COMPORT>. Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry (Невъзможност за връзка с апарата чрез серийния порт <COMPORT>. Проверете дали апаратът е правилно включен в задната част на компютъра, след което опитайте отново.)
- 5 Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument. Check you do not have any communications software open, then retry. (Невъзможност да се отвори серийния порт <COMPORT> за свързване към апарата. Проверете дали не е налице отворен софтуер за комуникация, след което опитайте отново.)
- 6 Could not save to run because some data on the form was invalid. Please check your entries then try again. (Невъзможност да се запази за цикъл, защото някои данни във формуляра са невалидни. Моля, проверете вашите записи и опитайте отново.)
- 7 Couldn't save file. Confirm the disk has enough space and that it is free of errors. (Файлът не можа да се запази. Уверете се, че на диска има достатъчно свободно пространство и че файлът не съдържа грешки.)
- 8 E-mail application could not be started. Confirm that it has been correctly installed on your computer. (Приложението за електронна поща не може да бъде стартирано. Уверете се, че е инсталирано правилно на вашия компютър.)
- 9 Encountered an error during run: <ERROR DESCRIPTION>. The run will continue, and a message will be logged in the messages tab of Run Info. (Възникна грешка по време на цикъл: <ОПИСАНИЕ НА ГРЕШКАТА>. Цикълът ще продължи и съобщението ще бъде регистрирано в раздела за съобщения Run Info (Информация за цикъла).)
- 10 Instrument was not detected. Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on. (Апаратът не е открит. Моля, уверете се, че сте свързали правилно апарата и че той е включен в захранването.)
- 11 Logging is currently disabled due to a previous error. Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted. (Регистрирането в момента е деактивирано поради предишна грешка. Архивираните регистрационни файлове не могат да бъдат прегледани, докато софтуерът не бъде рестартиран.)
- 12 Not all samples could be normalised as the fluorescent level was too low. (Не всички проби могат да бъдат нормализирани, тъй като флуоресцентното ниво е твърде ниско.)
- 13 Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported. (Могат да се импортират само цикли, извършени със същия ротор като текущия.)
- 14 Please note that log files for the current run will not be available until it has completed. (Моля, имайте предвид, че регистрационните файлове за текущия цикъл няма да бъдат достъпни, докато той не приключи.)
- 15 Please type valid number of times to repeat. It should be more than 0. (Моля, въведете валиден брой повторения. Стойността трябва да е над 0.)
- 16 Problem encountered while updating log data. Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run. (Възникна проблем при актуализиране на регистрационните данни. Регистрирането е деактивирано, но ще бъде активирано при следващото стартиране.)
- 17 Run file signing ensures the integrity of your run results. Information about a run's signature can be found in the Run Info window. (Сигнатурата на Run файла гарантира целостта на резултатите от цикъла. Информация за сигнатурата на цикъла може да бъде намерена в прозореца Run Info (Информация за цикъла).)

#### Текст на съобщението

- 18 Sample ID is locked. Cannot paste over locked samples. (Идентификационният номер на пробата е заключен. Не може да се постави върху заключени проби.)
- 19 TeeChart Office has not been installed on this computer. Please re-install the Rotor-Gene software. (TeeChart Office не е инсталиран на този компютър. Моля, инсталирайте отново софтуера Rotor-Gene.)
- 20 The COM port configured for the instrument is not selected. You must select a COM port. (COM портът, конфигуриран за апарата, не е избран. Трябва да изберете COM порт.)
- 21 The loaded run file contains a signature which does not match the file contents. This means the file has either been corrupted, or tampered with since it was written by the Rotor-Gene software. (Зареденият файл за цикъл съдържа сигнатура, която не съответства на съдържанието на файла. Това означава, че файлът е бил повреден или подправен, след като е написан от софтуера Rotor-Gene.)
- 22 The loaded run file has no signature. The contents of this file cannot be guaranteed. (Зареденият файл за цикъл няма сигнатура. Съдържанието на този файл не може да бъде гарантирано.)
- 23 The Machine serial number is not valid. Serial numbers must be at least 6 digits long. (Серийният номер на апарата не е валиден. Серийните номера трябва да са дълги поне 6 цифри.)
- 24 The machine will now be cooled to <TEMPERATURE> degrees. The chamber and surfaces will still be very hot when opening the machine. Please exercise due caution and wear protective gloves if touching any of the surfaces or tubes. (Понастоящем машината ще бъде охладена до <ТЕМПЕРАТУРА> градуса. Камерата и повърхностите все още са много горещи при отваряне на машината. Моля, бъдете внимателни и носете предпазни ръкавици ако докосвате повърхностите или епруветките.)
- 25 The regional settings for your computer are conflicting. Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching. (Регионалните настройки за вашия компютър са противоречиви. Уверете се, че вашата валута и числови десетични заместители съвпадат.)
- 26 The serial number entered in the welcome screen <SERIAL NUMBER1> does not match the serial number stored in the attached machine <SERIAL NUMBER2>. The computer's serial number has now been updated to match the connected machine. (Серийният номер, въведен в началния екран <СЕРИЕН НОМЕР1>, не съвпада със серийния номер, съхранен в свързания апарат <СЕРИЕН НОМЕР2>. Серийният номер на компютъра вече е актуализиран, за да съответства на свързания апарат.)
- 27 There was a problem communicating with the communication board. You should reboot the computer and then retry. (Възникна проблем при свързването с комуникационното табло. Трябва да рестартирате компютъра и след това да опитате отново.)
- 28 There was a timeout attempting to talk to the instrument. Check it is correctly plugged in. (Налице е изтекло време за изчакване при опит за връзка с апарата. Проверете дали е включен правилно.)
- 29 This feature cannot be used in virtual mode. (Тази функция не може да се използва във виртуален режим.)
- 30 This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Този файл на профил е създаден в по-нова версия на софтуера Rotor-Gene. Някои аспекти от него може да не се заредят правилно.)
- 31 This run file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the run may not load correctly. (Този run файл е създаден в по-нова версия на софтуера Rotor-Gene. Някои аспекти от него може да не се заредят правилно.)
- 32 This sample file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Този файл на проба е създаден в по-нова версия на софтуера Rotor-Gene. Някои аспекти от него може да не се заредят правилно.)
- 33 This software will perform basic simulation of a machine for training and demonstration purposes. You can disable this setting via the Setup screen, accessible from the File menu. (Този софтуер ще изпълнява симулация на основните функции на апарата за целите на обучение и демонстрация. Можете да деактивирате тази настройка чрез екрана Setup (Настройка), достъпен от менюто File (Файл).)
- 34 This template was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the template may not load correctly. (Този шаблон е създаден в по-нова версия на софтуера Rotor-Gene. Някои аспекти от него може да не се заредят правилно.)
- 35 Unable to load this sample file as tube layouts do not match. Load these samples before starting the run. (Този файл на проба не може да се зареди, тъй като разположението на епруветките не съвпада. Заредете липсващите проби преди стартиране на цикъла.)
- 36 Unable to open communications with the machine because another application is already using <COMPORT>. Check you do not have any applications running that use the same serial port, then retry. (Няма комуникация с апарата, тъй като друго приложение вече използва <COMPORT>. Проверете за наличие на активни приложения, които използват същия серийен порт, след което опитайте отново.)
- 37 Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file. The file was not loaded. (Възникнаха невъзстановими грешки при опит за зареждане на файла. Файлът не беше зареден.)
- 38 You cannot stop the program while the run is in progress. (Не можете да спирате програмата, докато се извършва даден цикъл.)
- 39 You have insufficient rights to use the software. Please contact the domain administrator to set up groups. (Нямате необходимите права за използване на софтуера. Моля, свържете се с администратора на домейна, за да настроите групи.)

---

**Текст на съобщението**

- 40 You must have performed a quantitation analysis to export samples. (Необходимо е да сте извършили количествен анализ, за да експортирате проби.)
- 41 You must select a COM port before continuing. (Необходимо е да изберете COM порт, преди да продължите.)
- 42 Your run could not be saved to its default location. On the following window, select an alternative location to save your run. (Цикълът не можа да бъде запазен на местоположението по подразбиране. В следващия прозорец изберете алтернативно място за запазването му.)
- 43 Your settings have been saved. Click OK to close the software. (Вашите настройки са запазени. Кликнете върху ОК, за да затворите софтуера.)
- 44 You must select a rotor before continuing. (Необходимо е да изберете ротор, преди да продължите.)
- 45 You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached. (Не можете да стартирате цикъла, докато не поставите отметка в квадратчето, за да потвърдите, че фиксиращият пръстен е поставен.)

**Съобщения за настройка на автоматично усилване**

- 46 Manual gain adjustment uses the channels you have defined in your profile. As you have not defined any acquisition points in your profile, you cannot perform manual gain adjustment. (Ръчното регулиране на усилването използва каналите, които сте дефинирали във вашия профил. Тъй като не сте дефинирали никакви точки за получаване в профила си, не можете да извършвате ръчна настройка на усилването.)
- 47 The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine. Enter a valid temperature. (Въведената от вас температура не бе запазена, тъй като е извън обхвата на апарата. Въведете валидна температура.)

**Съобщения на редактора**

- 48 Please enter a valid group code. Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas. (Моля, въведете валиден код на група. Кодовете на групите трябва да съдържат до 5 знака и да не включват интервали или запетаи.)
- 49 Please enter a valid group name. Group names cannot contain commas or be empty. (Моля, въведете валидно име на групата. Имената на групите не могат да съдържат запетаи или да са празни.)

**Съобщения при калибриране на оптична денатурация**

- 50 Unable to set as optical denature point due to calibration failure. Please enter a valid number of seconds to hold. It should be a positive value. (Невъзможност да се зададе като точка на оптична денатурация поради неуспешно калибриране. Моля, въведете валиден брой секунди за задържане. Стойността трябва да е положителна.)
- 51 A melt peak could not be detected during Optical Denature Calibration. This may be because the incorrect tube was selected for calibration, or that an inappropriate chemistry was used for this sample. A timed step profile was run instead. (По време на калибрирането на оптичната денатурация не бе открит пик на топене. Това може да се дължи на това, че е била избрана неправилната епруветка за калибриране или че за тази проба са използвани неподходящи химични вещества. Вместо това е стартиран профил с времеви стъпки.)

**Съобщения, свързани с OTV**

- 52 You must enter a valid OTV serial number to perform the run. (Трябва да въведете валиден сериен номер на OTV, за да извършите цикъл.)
- 53 This temperature verification file has been corrupted. Please uninstall and re-install the Rotor-Gene software to correct this error. (Този файл за проверка на температурата е повреден. Моля, деинсталирайте и инсталирайте отново софтуера Rotor-Gene, за да коригирате тази грешка.)
- 54 This run file is not correctly signed. Results cannot be displayed. (Този файл за цикъл не притежава правилната сигнатура. Резултатите не могат да се визуализират.)
- 55 You cannot start until you tick the checkbox to confirm that the fluorescent insert has been placed correctly. (Не можете да стартирате, докато не поставите отметка в квадратчето, за да потвърдите, че флуоресцентната вложка е поставена правилно.)
- 56 This rotor has expired. Please contact your distributor to obtain a replacement. (Този ротор е с изтекъл срок на годност. Моля, свържете се с местния дистрибутор, за да получите замяна.)

**Съобщения от менюто „Сигурност“**

- 57 Could not open the Windows user/group manager. (Потребителският/груповият мениджър на Windows не се отвори.)
- 58 Could not create groups. (Групите не бяха създадени.)
- 59 Cannot modify access of inbuilt accounts. (Достъпът до вградените профили не може да се променя.)

**Меню „Анализ“**

- 60 You have only selected one channel for analysis. To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window. (Избрали сте само един канал за анализ. За да изберете няколко канала, очертайте правоъгълник около каналите, които искате да визуализирате в прозореца за избор на анализ.)



#### Текст на съобщението

- 61 You have selected multiple channels for analysis. This analysis technique only allows single channels to be analysed. (Избрали сте няколко канала за анализ. Тази техника за анализ позволява да се анализират само единични канали.)
- Съобщения, свързани с измерване на концентрацията**
- 62 Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position. Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position. (Измерването на концентрацията извършва автоматично оптимизиране на усилването на първата позиция на ротора. Уверете се, че сте задали най-висок стандарт за концентрация в първата позиция на ротора.)
- Съобщения, свързани с анализ на крайната точка**
- 63 To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel. To define these controls click OK. (За да използвате анализ на крайната точка, трябва да имате положителни и отрицателни контроли във всеки канал. За да дефинирате тези контроли, кликнете върху ОК.)
- 64 You have not defined any positive controls. You must define positive controls for each channel you are analysing. (Не сте дефинирали положителни контроли. Трябва да дефинирате положителни контроли за всеки канал, който анализирате.)
- 65 You have not defined any negative controls. You must define negative controls for each channel you are analysing. (Не сте дефинирали отрицателни контроли. Трябва да дефинирате отрицателни контроли за всеки канал, който анализирате.)
- 66 You have not defined any NTC controls. You must define NTC controls for each group. (Не сте дефинирали NTC контроли. Трябва да дефинирате NTC контроли за всяка група.)
- Съобщения, свързани с HRM анализ**
- 67 Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined. (За генотипа <ИМЕ НА ГЕНОТИПА> не е дефинирана контрола.)
- 68 Duplicate genotype combinations are not allowed. (Не се допускат дублиращи се комбинации от генотип.)
- 69 High resolution melts are not supported on this instrument. Please contact your distributor for more information. (Този апарат не поддържа стопилки с висока разделителна способност. Моля, свържете се с местния дистрибутор за повече информация.)
- Съобщения, свързани с анализ на топене**
- 70 The genotypes can not be defined until bins have been placed. Please define all bins and then try again. (Генотипите не могат да бъдат дефинирани, докато не бъдат поставени биновете. Моля, дефинирайте всички бинове и след това опитайте отново.)
- 71 You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype. (Трябва да въведете съкращение за генотипа <ИМЕ НА ГЕНОТИПА>.)
- Съобщения, свързани с анализ на диаграмата на разсейване**
- 72 Scatter plot analysis requires exactly 2 channels to be selected. To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window, or click while holding the SHIFT key on each channel. (Анализът на диаграмата на разсейване изисква да бъдат избрани точно два канала. За да изберете няколко канала, очертайте правоъгълник около каналите, които искате да визуализирате в прозореца за избор на анализ, или кликнете, докато държите клавиша SHIFT върху всеки желан канал.)
- Съобщения, свързани с количествен анализ**
- 73 The auto-find threshold feature requires that you have defined at least 2 selected standards. To set this up, right-click on the sample list and select "Edit Samples..." (Функцията за автоматично намиране на прага изисква да сте дефинирали поне два избрани стандарта. За да ги настроите, кликнете с десния бутон върху списъка с проби и изберете „Edit Samples...“ (Редактиране на проби...))

## 12 Терминологичен речник

Термин	Описание
Получаване	Получаването е събиране на флуоресцентни данни. Всяко получаване (набор от флуоресцентни данни) от канал се визуализира в софтуера като неанализирани данни в прозореца „Raw channel“ (Канал с необработени данни). Тези данни могат да бъдат анализирани с помощта на опциите в менюто „Analysis“ (Анализ).
Бинове	При анализа на топене се задават бинове, които дефинират участъци, където се очаква да настъпи пика на топене. Генотипите могат да бъдат определени въз основа на наличието на пикове в определени бинове или комбинации от такива.
CE-IVD	Съответствие с Директива 98/79/ЕО на Европейския парламент и на Съвета относно диагностичните медицински изделия in vitro.
Канал	Каналът се състои от диод, излъчващ светлина (LED) с възбуждащ филтър, свързан с емисионен филтър. Светодиодът и възбуждащият филтър възбуждат проби при дадена дължина на вълната. Флуоресценцията, излъчвана от пробите, преминава през емисионния филтър, преди да бъде открита от фотоумножител.
Усилване	Rotor-Gene Q MDx използва фотоумножител за събиране на флуоресцентни фотони и преобразуването им в електронни сигнали. Коефициентът на усилване е настройка, която определя чувствителността на фотоумножителя. Ако усилването е зададено твърде високо, сигналът е пренаситен. Ако усилването е настроено твърде ниско, не е възможно да се разграничи сигналът от фоновия шум.
Оптимизиране на усилването	Оптимизирането на усилването е процес, който динамично регулира настройката на усилването, позволявайки да бъде избрана подходяща настройка, която води до оптимално откриване на сигнал.
Блок за зареждане	Зареждащите блокове са алуминиеви блокове, налични в различни формати, които се използват за задържане на епруветки или ротационни дискове по време на настройка на реакцията. Блоковете за зареждане на ротационни диск се използват също с Rotor-Disc Heat Sealer.
Фиксиращ пръстен	Фиксиращите пръстени са метални пръстени, които се монтират върху ротора, за да предотвратят разхлабването на епруветките и капачките по време на работата на Rotor-Gene Q MDx. Разхлабените капачки и епруветки могат да причинят повреда на апарата.
Ротор	Металният ротор държи епруветките или ротационните дискове в Rotor-Gene Q MDx. Той позволява на пробите да се въртят в инструменталната камера и гарантира, че те са правилно подравнени с оптичната система. Роторът е заключен с фиксиращ пръстен.
Ротационен диск	Ротационните дискове са кръгли плаки от вертикално ориентирани реакционни ямки. Предлагат се ротационните дискове за 72 и 100 реакции. Роторните дискове са запечатани с помощта на Rotor-Disc Heat Sealing Film и Rotor-Disc Heat Sealer.

## 13 Технически спецификации

QIAGEN си запазва правото да променя спецификациите във всеки един момент.

### 13.1 Условия на околната среда – условия на работа

Мощност	100 – 240 V AC, 50 – 60Hz, 520 VA (пикова) Консумирана мощност 60 VA (в режим на готовност) Колесанията в напрежението на мрежовото електрозахранване не трябва да надвишават 10% от номиналните захранващи напрежения.
Предпазител	F5A 250 V предпазител
Топлоотдаване/термично натоварване	Средно: 0,183 kW (632 BTU/час) Пиково: 0,458 kW (1578 BTU/час)
Категория на пренапрежение	II
Температура на въздуха	От 18 до 30°C
Относителна влажност	10–75% (без кондензация)
Надморска височина	До 2000 m
Място на работа	Само за употреба на закрито
Ниво на замърсяване	2
Екологичен клас	3K2 (IEC 60721-3-3) 3M2 (IEC 60721-3-3)

### 13.2 Условия на транспортиране

Температура на въздуха	От -25°C до 60°C във фабричната опаковка
Относителна влажност	Макс. 75% (без кондензация)
Екологичен клас	2K2 (IEC 60721-3-2)

### 13.3 Условия на съхранение

Температура на въздуха	От 15°C до 30°C във фабричната опаковка
Относителна влажност	Макс. 75% (без кондензация)
Екологичен клас	1K2 (IEC 60721-3-1)

### 13.4 Механични данни и хардуерни характеристики

Размери	Ширина: 370 mm Височина: 286 mm Дълбочина (без кабели): 420 mm Дълбочина (при отворени врати): 538 mm
Тегло	12,5 kg стандартна конфигурация
Капацитет	До 100 проби на цикъл с помощта на Rotor-Disc 100
Софтуер	Версия на софтуера Rotor-Gene Q 2.3.x (където x е ≥ 0)

## 13.5 Спецификации (хардуер и софтуер)

### 13.5.1 Топлинни спецификации

Описание	Спецификация
Температурен диапазон	От 35°C до 99°C (От 50°C до 99°C за приложения за циклизиране)
Температурна точност	±0,5°C (калибриран с помощта на процедурата Rotor-Disc OTV)
Температурна разделителна способност	±0,02°C (най-малкото програмируемо увеличение)
Еднородност на температурата	±0,02°C

### 13.5.2 Оптични спецификации

Описание	Спецификация
Източници на възбуждане	Високоенергийни светлинни диоди
Детектор	Фотоумножител
Време за получаване	4 сек

## 14 Приложение А – Правни

### 14.1 Декларация на FCC

Федералната комисия по комуникации на САЩ (United States Federal Communications Commission, USFCC) (в 47 CFR 15. 105) декларира, че потребителите на този продукт трябва да бъдат информирани за следните факти и обстоятелства.

„Това изделие отговаря на част 15 от FCC: Експлоатацията се подчинява на следните две условия: (1) това изделие не може да причинява вредни въздействия и (2) това изделие трябва да е неподатливо на всички получени въздействия, включително такива, които може да причинят нежелана експлоатация.“

„Този цифров апарат от клас В отговаря на канадския стандарт ICES-0003.“

Следната декларация се отнася за продуктите, обхванати от това ръководство, освен ако в настоящия документ изрично не е посочено друго. Декларацията за други продукти ще бъде включена в придружаващата документация.

**Забележка:** Оборудването е изпробвано и е установено, че отговаря на ограниченията за цифрово изделие от клас В съгласно част 15 от правилата на FCC и отговаря на всички изисквания на канадския стандарт ICES-003 относно дигиталните апарати за оборудване, причиняващо смущения. Тези ограничения целят да осигурят разумна защита срещу вредни въздействия при експлоатация на оборудването в жилищни райони. Това оборудване генерира, използва и може да излъчва радиочестотна енергия и ако не се монтира и използва в съответствие с инструкциите, може да причини вредни въздействия на радиокомуникациите. Независимо от това няма гаранция, че в определена инсталация няма да на възникнат смущения. Ако това оборудване причинява вредни смущения в приемане на радио или телевизионни програми, което може да бъде установено чрез изключване и включване на оборудването, е препоръчително потребителят да се опита да коригира смущенията чрез възприемане на една или повече от следните мерки:

- промяна на посоката или преместване на приемащата антена;
- увеличаване разстоянието между оборудването и приемника;
- свързване на оборудването към контакт в електрическа верига, различна от тази, към която е свързан приемникът.

Консултирайте се с търговеца или с опитен радио/телевизионен техник за помощ.

---

## 14.2 Съответствие с IEC EN 61326

Rotor Gene-Q MDx отговаря на изискванията за излъчване и устойчивост на смущения, описани в IEC 61326-1 и IEC 61326-2-6.

QIAGEN GmbH Германия не носи отговорност за никакви радио- и телевизионни смущения, причинени от неупълномощени изменения на това оборудване или от замяна или присъединяване на свързващи кабели и оборудване, различни от посочените от QIAGEN GmbH Германия. Коригирането на въздействията, причинени от такова неупълномощено изменение, замяна или присъединяване, ще бъде отговорност на потребителя.

---

### 14.3 Декларация за съответствие

Име и адрес на законния производител

QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1  
40724 Hilden  
Германия

Може да бъде заявена актуална Декларация за съответствие от отдела за техническо обслужване на QIAGEN.

## 14.4 Отпадъци от електрическо и електронно оборудване (ОЕЕО)

Този раздел предоставя информация за депониране от потребителите на отпадъци от електрическо и електронно оборудване.

Символът със зачеркната кофа на колелца (вижте по-долу) означава, че този продукт не трябва да се изхвърля с другите отпадъци; той трябва да се занесе в одобрено съоръжение за преработка или събирателен пункт за рециклиране в съответствие с местните нормативни разпоредби.

Разделното събиране и рециклиране на отпадъци от електронно оборудване в момента на депонирането помага за съхраняването на природните богатства и осигурява рециклирането на изделието по начин, който опазва човешкото здраве и околната среда.



Рециклиране може да се осигури от QIAGEN по заявка и срещу допълнително заплащане. В Европейския съюз, съгласно конкретните изисквания за рециклиране на ОЕЕО и в случай че QIAGEN предоставя заменящ продукт, се предлага безплатно рециклиране на обозначеното като ОЕЕО електронно оборудване.

За рециклиране на електронно оборудване можете да се обърнете към местния търговски офис на QIAGEN, за да получите необходимия формуляр за връщане. След изпращането на формуляра QIAGEN ще се обърне към Вас за допълнителна информация за насрочването на взимането на отпадъците от електронно оборудване или ще Ви калкулира индивидуална цена.



---

## 14.5 Клауза за отговорност

QIAGEN не поема никакви задължения по тази гаранция в случай на поправки или изменения, извършени от лица, различни от собствения си персонал, освен когато компанията е дала писмено съгласие за извършването на такива поправки или изменения.

Всички материали, заменени по силата на тази гаранция, ще получат гаранционно покритие само за продължителността на първоначалния гаранционен период и в никакъв случай – след датата на изтичане на първоначалната гаранция освен при наличие на писмено разрешение от служител на компанията. Показващите изделия, интерфейсите изделия и свързания с тях софтуер имат гаранционно покритие само за периода, предлаган от първоначалния производител на тези продукти. Направените от което и да е лице, включително представители на QIAGEN, изявления и гаранции, които са несъгласувани или в противоречие с условията на тази гаранция, не са обвързващи за компанията, освен ако произтичат в писмен вид и са одобрени от служител на QIAGEN.

## 14.6 Споразумение за софтуерно лицензиране

1. По-долу „Qiagen“ се отнася до Qiagen GmbH и неговите филиали, а „Софтуер“ означава програмите и данните, предоставени на този физически носител (напр. CD-ROM) или през Интернет при тези условия. (Ако не сте сигурни в някой аспект на това споразумение или имате въпроси, те трябва да бъдат изпратени по имейл на адрес [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com).) Софтуерът и всяка придружаваща документация са разработени изцяло на лични разноски. Те се доставят и лицензират като „търговски компютърен софтуер“.

### 2. Лиценз

Вашият лиценз не предоставя право на собственост или владение върху Софтуера и не е включва продажбата на каквито и да било права върху Софтуера. Qiagen Ви предоставя непрехвърляем неизключителен лиценз, както следва:

2.1 Вие използвате произволен брой копия на Софтуера във Вашата организация, при условие че софтуерът е достъпен за използване само от служители на организацията и че Вашата организация е настоящият собственик на апарат Rotor-Gene Q. Предоставянето на този софтуер за използване извън Вашата организация представлява нарушение на това споразумение.

2.2 Можете да правите копия на Софтуера само ако е необходимо за целите на архивиране или когато копирането е съществена стъпка от разрешеното използване на Софтуера. Трябва да възпроизвеждате всички бележки за авторски права в оригиналния софтуер върху всички копия. При никакви обстоятелства не можете да копирате Софтуера на табло за бюлетини, интернет уеб сайт или подобна публична или частна система за разпространение.

2.3 Нямаме право да предоставяте Софтуера на трета страна като подарък, заем или наемане.

2.4 Нямаме право да включвате Софтуера или която и да е част от Софтуера в програми или компютърни системи, разработени или използвани от Вас.

2.5 Нямаме право да използвате или по друг начин да създавате файлове с данни или други файлове, обработвани от Софтуера (освен както се случва по време на нормалната работа на Софтуера).

2.6 Няма право да разглобявате, да извършвате обратен инженеринг, обратно компилиране, отключване или превеждане на която и да е част от Софтуера или да правите опити за откриване на изходния код или основните алгоритми на Софтуера. Няма право да промените нито един от файловете с данни или други файлове, които съдържат Софтуера (запазване, както се случва по време на нормалната работа на Софтуера).

2.7 Ако това е демонстрационна или пробна версия на Софтуера, Вие имате лиценз да го използвате само за целите на оценката и в рамките на описаните ограничения (като ограничение във времето или ограничени тиражи или други ограничения). Софтуерът може или не може да се опитва да наложи посочените ограничения и неуспехът на Софтуера да наложи споменатите ограничения не представлява лиценз за Вас да надхвърлите посочените ограничения.

2.8 Вие се съгласявате да получите всички необходими регистрационни/лицензионни ключове само от Qiagen или оторизиран дистрибутор и да запазите този ключ строго поверителен от всички трети страни.

### 3. Прекратяване

3.1 Qiagen може да прекрати този лиценз, без да се засягат други права, в случай че не спазвате условията на този лиценз.

3.2 В рамките на 7 дни след прекратяване на този лиценз, Вие ще предоставите на Qiagen писмо, удостоверяващо унищожаването на оригинала и всички копия на Софтуера, както и унищожаването на всички копия на всеки регистрационен/лицензионен ключ. Можете да прекратите този лиценз по всяко време, като предоставите такова потвърждение.

### 4. Ограничена гаранция/отговорност

4.1 Qiagen Ви гарантира само че:

а) ако софтуерът се доставя на CD-ROM, CD-ROM не съдържа дефекти в материалите и изработката при нормална употреба за период от деветдесет дни от датата на закупуване. (Ние ще заменим всеки дефектен CD-ROM безплатно.);

б) ако се използва правилно, Софтуерът ще отговаря по същество на документацията, предоставена със Софтуера или друга спецификация, публикувана от Qiagen за период от деветдесет дни от датата на закупуване.

---

4.2 Цялата отговорност на QIAGEN и единственото обезщетение за Вас, по усмотрение на QIAGEN, се свежда до компенсация на стойност двеста и петдесет щатски долара (250 US \$) или замяна на Софтуера, който не отговаря на ограничената гаранция.

4.3 С ИЗКЛЮЧЕНИЕ НА ГАРАНЦИИТЕ, ДАДЕНИ В РАЗДЕЛ 4.1 ПО-ГОРЕ И В МАКСИМАЛНАТА СТЕПЕН, РАЗРЕШЕНА ОТ ЗАКОНА, QIAGEN НЕ ДАВА ДРУГИ ГАРАНЦИИ ПО ОТНОШЕНИЕ НА СОФТУЕРА.

4.4 ДО МАКСИМАЛНАТА СТЕПЕН, РАЗРЕШЕНА ОТ ЗАКОНА И ПРИ НИКАКВИ ОБСТОЯТЕЛСТВА И ПРИ НИКАКВА ПРАВНА ТЕОРИЯ, ДЕЛИКТ, ДОГОВОР ИЛИ ПО ДРУГ НАЧИН, QIAGEN НЯМА ДА НОСИ ОТГОВОРНОСТ ПРЕД ВАС ИЛИ ВСЯКО ДРУГО ЛИЦЕ ЗА КАКВИТО И ДА БИЛО КОСВЕНИ, СПЕЦИАЛНИ, СЛУЧАЙНИ ИЛИ ПОСЛЕДВАЩИ ВРЕДИ ОТ ВСЯКАКЪВ ХАРАКТЕР, ВКЛЮЧИТЕЛНО БЕЗ ОГРАНИЧЕНИЕ, ЩЕТИ ОТ ЗАГУБА НА РЕПУТАЦИЯ, СПИРАНЕ НА РАБОТАТА, ПОВРЕДА ИЛИ НЕИЗПРАВНОСТ НА КОМПЮТЪРА ИЛИ ВСЯКАКВИ ДРУГИ ТЪРГОВСКИ ЩЕТИ ИЛИ ЗАГУБИ, ДОРИ АКО QIAGEN Е БИЛ ИНФОРМИРАН ЗА ВЪЗМОЖНОСТТА ЗА ТАКИВА ЩЕТИ. ВЪВ ВСЕКИ СЛУЧАЙ ЦЯЛАТА ОТГОВОРНОСТ НА QIAGEN ПО ТОВА СПОРАЗУМЕНИЕ ЩЕ БЪДЕ ОГРАНИЧЕНА ДО ЛИЦЕНЗИОННАТА ТАКСА, ПЛАТЕНА ОТ ВАС ЗА СОФТУЕРА. ТОВА ОГРАНИЧЕНИЕ НА ОТГОВОРНОСТТА НЕ СЕ ПРИЛАГА ЗА ОТГОВОРНОСТ ЗА СМЪРТ ИЛИ ТЕЛЕСНА ПОВРЕДА, ДОКОЛКОТО ПРИЛОЖИМОТО ЗАКОНОДАТЕЛСТВО ЗАБРАНЯВА ТАКОВА ОГРАНИЧЕНИЕ

## 15 Приложение Б – Математически методи

Това приложение дава подробно описание на използваните математически методи.

### 15.1 Количествено определяне

Изчислените концентрации се получават от прост модел на линейна регресия, като известните стойности са  $\log$  концентрациите ( $x$ ) и експерименталните стойности са СТ стойностите ( $y$ ).

$\log$  концентрациите и СТ стойностите на стандартите се използват за конструиране на следния модел:

$$y = Mx + B$$

#### 15.1.1 Доверителни интервали за изчислени концентрации

Използваме следния доверителен интервал  $100(1 - \alpha)\%$  за оценка на ново наблюдение  $x_0$  от стандартната крива.

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left( 1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Това е доверителният интервал за концентрацията на една неизвестна проба.

Да предположим, че имаме  $k$  нови наблюдения при  $x = x_0$  и означаваме тяхната средна стойност с  $\bar{Y}_0$ . Тогава,

$$\bar{Y}_0 \sim N\left(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k}\right)$$

и аргументи подобни на горния дават

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left( \frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Тази формула определя как се получават доверителните интервали за концентрациите на повторения от неизвестни.

За определяне на стандарти могат да се използват по-тесни доверителни интервали:

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left( \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Смисълът на формулата е, че добавянето на повторения към стандартна индивидуална концентрация намалява ширината на интервала за всички оценки с повишаването на  $n$ . Добавянето на множество повторения към неизвестно намалява несигурността от употребата на един стандарт. Това се дължи на факта, че неизвестното не формира част от линейния модел.

### 15.1.2 Доверителни интервали за стойностите на СТ

Допускаме, че грешката при повторенията на СТ стойностите е линейна и нормално разсеяна.

Затова използваме One-Sample  $t$  доверителен интервал. Нека  $\mu$  е средната стойност за СТ стойностите за повторенията  $(x_0 \dots x_{n-1})$ . Тогава  $100(1 - \alpha)\%$  доверителният интервал за СТ стойност  $\mu$  е:

$$\left( \bar{x} - t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Бихме искали да благодарим на Питър Кук от математическият факултет на Университета NSW, Сидни, Австралия за помощта при проверката на математическите подходи.

## 16 Информация за поръчка

### 16.1 Продукти, аксесоари и консумативи за Rotor-Gene Q MDx

Продукт	Съдържание	Кат. №
Rotor-Gene Q MDx 5plex	Апарат за цикли Real-time PCR (циклер за real-time PCR) с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), лаптоп, софтуер, аксесоари, едногодишна гаранция на части и труд	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Апарат за цикли за real-time PCR (циклер за real-time PCR) и анализатор на стопилки с висока разделителна способност с 5 канала (зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен) плюс канал HRM, лаптоп, софтуер, аксесоари, едногодишна гаранция на части и труд	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex	Апарат за цикли Real-time PCR (циклер за real-time PCR) с 6 канала (син, зелен, жълт, оранжев, червен, пурпурен), включително лаптоп, софтуер, аксесоари, едногодишна гаранция на части и труд	9002042
<b>Аксесоари</b>		
Rotor-Disc 100 Starter Kit	Наборът включва: 2 опаковки Rotor-Disc 100, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 100 Rotor и Locking Ring, Rotor-Disc 100 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid	Поинтересувайте се
Rotor-Disc 100 (30)	30 индивидуално опаковани диска за 3000 реакции	981311
Rotor-Disc 100 (300)	10 x 30 индивидуално опаковани диска за 30 000 реакции	981313
Rotor-Disc 100 Rotor	За фиксиране на дискове Rotor-Disc 100 в Rotor-Gene Q MDx; изисква Rotor-Disc 100 Locking Ring	9018895
Rotor-Disc 100 Locking Ring	За заключване на Rotor-Disc 100 в Rotor-Disc 100 Rotor	9018896

Продукт	Съдържание	Кат. №
Rotor-Disc 100 Loading Block	Алуминиев блок за ръчна и автоматизирана настройка на реакцията в дискове на Rotor-Disc 100	9018909
Rotor-Disc Pipetting Aid	Помощно средство за маркиране на ямка по време на ръчна настройка на реакция на Rotor-Disc Loading Block	9018897
Rotor-Disc Heat Sealer	Инструмент за топлинно запечатване за използване с ротационни дискове; изисква Rotor-Disc 72 или Rotor-Disc 100 Loading Block	9018898
Rotor-Disc Heat Sealing Film (60)	60 броя запечатващо фолио за дискове Rotor-Disc 100 or Rotor-Disc 72	981601
Rotor-Disc Heat Sealing Film (600)	10 x 60 броя запечатващо фолио за дискове Rotor-Disc 100 or Rotor-Disc 72	981604
Rotor-Disc 72 Starter Kit	Наборът включва: 3 опаковки Rotor-Disc 72, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 72 Rotor и Locking Ring, Rotor-Disc 72 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid	Поинтересувайте се
Rotor-Disc 72 (24)	24 индивидуално опаковани диска за 1728 реакции	981301
Rotor-Disc 72 (240)	10 x 24 индивидуално опаковани диска за 17 280 реакции	981303
Rotor-Disc 72 Rotor	За фиксиране на Rotor-Disc 72 ротационен диск в Rotor-Gene Q MDx; изисква Rotor-Disc 72 Locking Ring	9018899
Rotor-Disc 72 Locking Ring	За заключване на Rotor-Disc 72 в Rotor-Disc 72 Rotor	9018900
Rotor-Disc 72 Loading Block	Алуминиев блок за ръчна и автоматизирана настройка на реакцията в дискове на Rotor-Disc 72	9018910
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 ленти от 4 епруветки и капачки за 1000 реакции	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 ленти от 4 епруветки и капачки за 10 000 реакции	981106
72-Well Rotor	За фиксиране на Strip Tubes and Caps, 0.1 ml; изисква Locking Ring 72-Well Rotor	9018903



Продукт	Съдържание	Кат. №
Locking Ring 72-Well Rotor	За фиксиране на Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, в 72-Well Rotor	9018904
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Алуминиев блок за ръчна подготовка на реакция с едноканална пипета в 72 епруветки x 0,1 ml	9018901
Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel	Алуминиев блок за подготовка на реакция с многоканална пипета в 72 епруветки x 0,1 ml	9018902
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1000 тънкостенни епруветки за 1000 реакции	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 тънкостенни епруветки за 10 000 реакции	981008
36-Well Rotor	За фиксиране на PCR Tubes, 0.2 ml; изисква 36-Well Rotor Locking Ring	9018907
36-Well Rotor Locking Ring	За фиксиране на PCR Tubes, 0.2 ml, в 36-Well Rotor	9018906
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Алуминиев блок за ръчна подготовка на реакция в стандартна конфигурация 8 x 12 с 96 епруветки x 0,2 ml	9018905
Rotor-Disc OTV Kit	Набор за оптична проверка на температурата на системи Rotor-Gene, включва ротационен диск, предварително зареден с термохроматични течни кристали, флуоресцентни вложки, изисква Rotor-Disc 72 Rotor и Locking Ring или Rotor-Disc 72 Starter Kit	981400
Rotor Holder	Метален, свободно стоящ държач за епруветки и ротационни дискове в ротори	9018908

За актуална информация относно лицензирането и заявления за освобождаване от отговорност за конкретни продукти вижте съответния наръчник или ръководство за потребителя на набора QIAGEN. Наръчниците и ръководствата за потребителя на набори QIAGEN са достъпни на адрес [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) или могат да бъдат заявени от отдела за техническо обслужване на QIAGEN или местния ви дистрибутор.

## 17 Хронология на редакциите на документа

Дата	Промени
R1, февруари 2022 г.	Първо издание

#### Ограничено лицензионно споразумение за Rotor-Gene Q MDx

Употребата на този продукт означава, че всеки купувач или потребител на продукта приема следните условия:

1. Продуктът може да се използва само по протоколите, предоставени с продукта и настоящите Инструкции за употреба, и само с компонентите, съдържащи се в набора. QIAGEN не предоставя лиценз по никакви права върху своята интелектуална собственост за употребата или включването на приложените компоненти на този набор с компоненти, които не са включени в този набор, освен както е описано в протоколите, предоставени с продукта, настоящите Инструкции за употреба и допълнителните протоколи, които могат да се изтеглят от адрес [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Някои от тези допълнителни протоколи са предоставени от потребители на QIAGEN за потребители на QIAGEN. Тези протоколи не са тествани щателно или оптимизирани от QIAGEN. QIAGEN не дава гаранция за тях и не гарантира, че те не нарушават правата на трети страни.
2. Освен изрично посочените лицензи, QIAGEN не дава гаранция, че този набор и/или неговата употреба не нарушават правата на трети страни.
3. Този набор и неговите компоненти са лицензирани за еднократна употреба и не могат да се използват повторно, регенерират или препродават.
4. QIAGEN изрично се освобождава от отговорност за всякакви други лицензи – явни или подразбиращи се – освен изрично посочените.
5. Купувачът и потребителят на набора дават съгласие да не предприемат или позволяват на други лица да предприемат действия, които могат да доведат до или да улеснят някое от действията, забранени по-горе. QIAGEN може да приложи забраните в настоящото Ограничено лицензно споразумение във всеки съд и ще възстанови всичките си разходи за разследване и съдебни разходи, включително адвокатски хонорари, при всяко действие за прилагане на Ограниченото лицензно споразумение или някое от правата върху интелектуална собственост, свързани с набора и/или неговите компоненти.

Актуалните условия на лиценза ще намерите на [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

Търговски марки: QIAGEN®, Sample to Insight®, EpiTect®, HotStarTaq®, Rotor-Disc®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager®, Type-it® (QIAGEN Group); Adobe®, Illustrator® (Adobe Systems, Inc.); Alexa Fluor®, HEX™, JOE™, Marina Blue®, ROX™, SYBR®, SYTO®, TET™, Texas Red®, VIC® (Thermo Fisher Scientific или негови подразделения); CAL Fluor®, Quasar® (Biosearch Technologies, Inc.); Core™, Intel® (Intel Corporation); Cy® (GE Healthcare); EvaGreen® (Biotium, Inc.); Excel®, Microsoft®, Windows® (Microsoft Corporation); LC Green® (Idaho Technology, Inc.); LightCycler® (Roche Group); Symantec® (Symantec Corporation); TeeChart® (Steema Software SL); Yakima Yellow® (Nanogen, Inc.). Регистрираните имена, търговските марки и пр., използвани в настоящия документ, дори ако не са изрично обозначени като такива, не се считат за незащитени от закона. Регистрираните имена, търговските марки и пр., използвани в настоящия документ, дори ако не са изрично обозначени като такива, не се считат за незащитени от закона.

TeeChartOffice: Авторско право 2001 – 2013 г. на Дейвид Бернеда. Всички права запазени.

За приложимите държави:

Този апарат за термично циклизиране в реално време е лицензиран съгласно патентни права, които предстои да бъдат одобрени. Лицензът се отнася за апарат или система със серийен номер на САЩ 07/695,201, обхваща автоматизирани термични циклери с флуоресцентни детектори и има приоритет пред съответните претенции, свързани с всеки чуждестранен аналогичен патент, притежаван от Applied Biosystems LLC, във всички области, включително научноизследователска и развойна дейност, всички приложни области и инвитро диагностиката при хора и животни. Никакви права не се предават изрично, подразбиращо се или чрез лишаване от право на възражение върху каквито и да било патенти, свързани с методи в реално време, включително, но не само 5' нуклеазни анализи, или към всеки патент, претендиращ за даден реактив или набор. За допълнителна информация относно закупуването на допълнителни права се свържете с директора по лицензиране на Applied Biosystems, 850 Lincoln Center Drive, Foster City, California, 94404, САЩ.

За приложимите държави:

Попълната на този продукт включва ограничен лиценз, неподлежащ на прехвърляне към един или повече патенти на САЩ № 6,787,338; 7,238,321; 7,081,226; 6,174,670; 6,245,514; 6,569,627; 6,303,305; 6,503,720; 5,871,908; 6,691,041; 7,387,887; 7,273,749; 7,160,998; Заявки за патент в САЩ № 2003-0224434 и 2006-0019253 и Заявка за патент пред PCT № WO 2007/035806, и всички продължения и раздели, и съответните претенции в патенти и заявки за патенти извън Съединените щати, собственост на University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Evotec Biosystems GmbH и/или Roche Diagnostics GmbH само за инвитро диагностика при хора или животни. Никакви права не се предават изрично, подразбиращо се или чрез лишаване от право на възражение, за какъвто и да било реактив или набор, или съгласно други патенти или патентни претенции, притежавани от University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Roche Diagnostics GmbH или от която и да било друга страна. Този продукт може да работи само с разрешени реактиви като напълно лицензирани набори и анализи на QIAGEN. За информация относно закупуване на лицензи за инвитро диагностични приложения или реактиви, моля, свържете се с Roche Molecular Systems, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, САЩ.

HN-3090-001 02/2022 © 2022 QIAGEN, всички права запазени.

---

Поръчване [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Техническа поддръжка [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Уебсайт [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)